Станимир Димитров

ПОСТЦЕРВИКАЛЕН МЕТОД ЗА ИЗКУСТВЕНО ОСЕМЕНЯВАНЕ НА СВИНЕ:

СЪСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВИ ЗА ПРИЛОЖЕНИЕ

Стара Загора
2021

доц. д-р Станимир Димитров

ПОСТЦЕРВИКАЛЕН МЕТОД ЗА ИЗКУСТВЕНО ОСЕМЕНЯВАНЕ НА СВИНЕ: СЪСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВИ ЗА ПРИЛОЖЕНИЕ

МОНОГРАФИЯ

Академично издателство
Тракийски университет

Стара Загора
2021

В настоящата монография е разгледан методът за постцервикално осеменяване на свине и приложението му в свиневъдството.

В теоретичен аспект са представени механизмите на придвижване, транспорт, отбор и съхранение на сперматозоидите в половата система на женските животни. Специално внимание е отделено на особеностите в протичането на половия цикъл при свинята, определяне на оптималния момент за изкуствено осеменяване и методите за впръскване на семенната течност в половата система.

В монографията са включени авторски изследвания, свързани с проучване на различни методи за осеменяване и обем/брой сперматозоиди в дозата, както и влияние на отделни фактори върху репродуктивните показатели на свинете.

В заключение са посочени методически указания за провеждане на постцервикално осеменяване на свине.

Авторът ще приеме с внимание и благодарност предложенията и ще се съобрази с критичните бележки.

© Автор: доц. Станимир Димитров, д-р

© Академично издателство, Стара Загора, 2021 год.

ПОСТЦЕРВИКАЛЕН МЕТОД
ЗА ИЗКУСТВЕНО ОСЕМЕНЯВАНЕ НА СВИНЕ:
СЪСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВИ ЗА ПРИЛОЖЕНИЕ

Рецензенти
доц. Иван Николов Иванов, д-р
доц. Георги Бонев Георгиев, д-р

Редактор
Веселина Радкова

Печат: "ПЕЧАТНИЦАТА" ЕООД, Стара Загора
Формат: 70/100/16, печатни коли 10
ISBN 978-954-338-172-2

УВОД

През последните две десетилетия асистираната репродуктивна технология, като елемент от прилаганите биотехнологии в животновъдството, бележи бързо развитие. Независимо, че изкуственото осеменяване при селскостопанските животни се прилага отдавна, се счита за една от най-успешните технологии за размножаване, а именно впръскване на сперматозоиди в половата система на женските животни с цел оплождане на яйцеклетките. Първите опити за изкуствено осеменяване на селскостопанските животни се извършват през XIV$^{-ти}$ век, а въвеждането на метода в свиневъдството е от началото от XX$^{-ти}$ век. Днес, при над 90 % от свинете отглеждани в Европейския съюз и Северна Америка, се прилага изкуствено осеменяване (Feitsma, 2009), като около 85 % от запложданията са проведени в рамките на 24 – 72 часа след получаването на семенната течност и съхранение при температура 15 – 20° C.

Понастоящем, в страните с развито свиневъдството се прилагат две системи на размножаване. При първата т. нар. „отворена система“, използвана в Западна Европа, САЩ, Канада и др., в отделните държави са изградени централизирани станции, където се отглеждат само нерези за получаване на семенна течност, която се обработва и транспортира до фермите в рамките на 3 – 7 дни след получаването й. При втората „затворена система“, прилагана предимно в страните от Източна Европа и др., в самите свиневъдните стопанства се отглеждат разплодниците, от които се получава сперма, необходима за изкуственото осеменяване на женските животни в дадената ферма.

Методът на изкуствено осеменяване има редица предимства пред естественото съешаване, изразяващи се в следните аспекти: 1) повишаване на генетичния прогрес в свиневъдството чрез използването на елитни разплодници; 2) оптимизиране на системите за развъждане при свинете; 3) намаляване броя на използваните нерези за разплод и разходите по тяхното отглеждане във фермите; 4) максимално използване на селекционирани разплодници чрез разреждане на получената семенна течност и получаване на повече дози за осеменяване и 5) предотвратяване на риска от предаване на заболявания по полов път.

Въпреки че методът за изкуствено осеменяване при свинете е сравнително лесен за приложение, се изискват определени умения и мотивация от персонала, който го прилага, както по отношение на получаване, преценка на качествените показатели и обработка на спермата, така и при нейното разреждане и съхранение. Важен момент, свързан с ефективността на метода за изкуствено осеменяване при свинете, е определяне фазата на еструса и оптималния момент за осеменяване, с цел получаване на висок процент заплодяемост и размер на прасилото (Maes et al., 2011).

Независимо че при естествено съешаване/изкуствено осеменяване при свинете се прилагат милиарди сперматозоиди, само няколко от тях достигат до мястото на оплождане, а голяма част преминават процес на отбор и елиминация при транспорта им през женската полова система. В тази връзка през последното десетилетие усилията са насочени към усъвършенстване на стандартната технология

за заплождане чрез въвеждане на нови специфични приоми, целящи намаляване броя на сперматозоидите, аплицирани при изкуственото осеменяване, с оглед оптималното използване на получаваните еякулати от разплодниците. Това е свързано с усъвършенстване метода за изкуствено осеменяване, респ. преценката, разреждането и съхранението на семенната течност, както и въвеждане на съвременно оборудване със специфичен инструментариум за изкуствено осеменяване.

С Ъ Д Ъ Р Ж А Н И Е

1. Исторически аспекти в развитието на технологията за изкуствено осеменяване на свине 9
2. Системи на развъждане и структура на промишленото свиневъдство 12
3. Репродуктивна анатомия и физиология на свинята
   Анатомично устройство на женската полова система 19
   Придвижване на сперматозоидите в женската полова система..... 21
   Депониране на сперматозоидите в женската полова система 22
   Транспорт на сперматозоидите до депата за съхранение преди оплождане 24
   Фактори определящи формирането на депата за съхранение на сперматозоидите преди оплождане 25
   Транспорт на сперматозоидите в яйцепровода преди оплождане 27
   Загуби на сперматозоидите в женската полова система след изкуствено осеменяване 29
   Отбор на сперматозоидите в женската полова система след изкуствено осеменяване 33
   Полов цикъл 35
4. Методи за изкуствено осеменяване на свине
   Установяване на еструса и определяне на оптималния момент за изкуствено осеменяване 38
   Цервикален метод за изкуствено осеменяване 46
   Постцервикален метод за изкуствено осеменяване 48
   Интраутеринен/дълбокоматочен метод за изкуствено осеменяване 61
   Интратубарен/лапароскопски метод за изкуствено осеменяване 64
5. Инструменти за изкуствено осеменяване на свине 67

6. Собствени изследвания
Проучване ефекта от приложението на различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата върху репродуктивните показатели на свинете 73
Проучване влиянието на интервала отбиване –заплождане при различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата върху репродуктивните показатели на свинете 76
Проучване влиянието на поредността на опрасване при различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата върху репродуктивните показатели при свинете 80
Проучване ефекта от използването на синтетична плазма PREDIL® – MR-A® при различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата върху репродуктивните показатели при свинете 82
7. Фактори влияещи върху репродуктивните показатели на свине при постцервикалното изкуствено осеменяване
Обем и брой сперматозоиди в дозата семенна течност за осеменяване 93
Възраст на свинете/поредност на опрасване 98
Сезонни фактори 103
Интервал отбиване-проява на еструс/заплождане 104
Ефект на разплодника 105
Разреждане и съхранение на спермата преди изкуствено осеменяване 106
Добавка на биологично активни вещества в половата система на свинете и дозите сперма преди изкуствено осеменяване 110
Квалификация на персонала 117
8. Норми на репродуктивните показатели при свине 118
9. Методически указания при провеждане на постцервикално осеменяване на свине 122
10. Библиография 131

ИСТОРИЧЕСКИ АСПЕКТИ В РАЗВИТИЕТО НА ТЕХНОЛОГИЯТА ЗА ИЗКУСТВЕНО ОСЕМЕНЯВАНЕ НА СВИНЕ

Първите опити за изкуствено осеменяване на свине са проведени в Русия от Иля Иванович Иванов през 1900 год. (Иванов, 1907; Ivanoff, 1922). По-късно интензивни проучвания в тази насока са проведени в САЩ (McKenzie, 1931), Западна Европа (Polge, 1956) и Япония (Niwa, 1958). В средата на XX век започва и масовото му приложение в свиневъдството. Тогава е установена и възможността за получаване на семенна течност от нерез върху манекен по т.нар. мануелен метод (Polge, 1956; Hancock and Hovel, 1959). В по-ново време, Althouse and Lu, 2005 предлагат за условията на практиката модифициран модел „изкуствена вагина" за получаване на сперма – *Collectis* (IMV technologies, Франция)*, BoarMatic Collection System* (Minitüb GmbH, Германия) и др.

Допълнителен тласък в развитието на технологията за изкуствено осеменяване на свинете дава разработването на подходящи сперморазредители за разреждане на семенната течност, както и методи за нейното съхранение. Първите среди са разработени в Русия (Ivanoff, 1922; Милованов, 1962) и САЩ (Philips and Lardy, 1940), а основната идея е била да се намали броят на сперматозоидите в дозата за осеменяване. Тези сперморазредители са били разработени на базата на водни разтвори, съдържащи глюкоза в комбинация с натриев-калиев тартарат или натриев сулфат и пептон, и това е давало възможност за съхранение и транспортиране на спермата за определен период от време при температура +7° – 12°C. По-късно Ito et al., 1948 препоръчват

температурен режим за съхранение на разредената сперма при +15 – 20° С, прилагащ се понастоящем в свиневъдната практика. Най-широко използваният сперморазредител за разреждане на сперма от нерез е Белтсвилския разредител (BTS), разработен от Pursel and Johnson, 1975. Той дава възможност за съхранение на разредените сперматозоиди до 48 – 72 часа при запазване на тяхната оплодителна способност. Сперматозоидите в неразредената сперма на нереза са толерантни към широки граници на осмотичното налягане на средата (от 240 до 380 mOsm), но са доста чувствителни към промените на pH. В тази връзка Crabo, Brown and Graham, 1972; Gadea, 2003 препоръчват разредителите за сперма от нерез да съдържат в състава си енергийни компоненти (глюкоза, фруктоза и др.), протективни съставки срещу температурния шок (говежди серумен албумин), антиоксиданти, буферни добавки (бикарбонати, натриев цитрат, TRIS, MOPS, HEPES), електролити (натриев хлорид, калиев хлорид), етилендиаминтетраацетат (EDTA), които да неутрализират активността на калциевите йони, както и антибиотици блокиращи развитието на микроорганизмите в получената семенна течност. Вследствие на това са разработени сперморазредители за дълготрайно съхранение на разредената сперма от нерези за период 5 – 7 дни (Gottardi, Brunel and Zanelli, 1980; Martin Rilo, 1984).

От началото на внедряване на изкуственото осеменяване при свинете (40$^{-те}$ – 50$^{-те}$ години на XIX век) се препоръчва използване на дълбокоцервикален начин за аплициране на спермата с дози за осеменяване с обем 80 – 100 мл, съдържащи минимум 2.5×10^{9} бр. сперматозоиди при дву-/трикратно прилагане по време на еструс

(Johnson et al., 2000). Първоначално методът е разработен от Merloze and O'Hagen, 1961 и е стандартизиран през 1970 год., като понастоящем се прилага масово в промишленото свиневъдство.

Между 70$^{-те}$ – 90$^{-те}$ години на миналия век са проведени интензивни проучвания в областта на технологията за изкуствено осеменяване на свинете. Натрупаните теоретични знания относно репродуктивната физиология на нереза и свинята, разкритият механизъм за протичане на половия цикъл при женските животни, установяването на подходящи методи за определяне оптималния момент за осеменяване, съответното необходимо разреждане и съхраняване на семенната течност, обучението на персонала за правилно провеждане на техниката по заплождане на свинете, разкриват възможности за получаване на репродуктивни показатели, сходни с тези от естественото съешаване.

През последните години усилията на свиневъдната индустрия са насочени към оптимизиране технологията за изкуствено осеменяване чрез по-ефикасна употреба на семенната течност и максимално използване на разплодниците с висок генетичен потенциал. В тази връзка се разработват нови методи за осеменяване на свине с намален брой сперматозоиди в необходимата доза за аплициране (Krueger, Rath and Johnson, 1999 – хирургичен метод за маточно осеменяване; Gil, Tortades and Alevia, 2000 – постцервикален метод за впръскване на спермата и Martinez et al., 2001 – нехирургичен метод за дълбокоматочно аплициране на семенната течност).

СИСТЕМИ НА РАЗВЪЖДАНЕ И СТРУКТУРА НА ПРОМИШЛЕНОТО СВИНЕВЪДСТВО

Съвременното промишлено свиневъдство се основава на метода за хибридизация, при който се кръстосват специализирани селекционирани линии от една или няколко породи, изпитани по тяхната комбинативна способност. В тази връзка, на сегашния етап на развитие на свиневъдството основно се прилагат три системи на хибридизация – прекъсната, непрекъсната и плаващ нуклеус (van Haandel and Charagu, 2015).

Прекъснатата хибридизация е изградена на принципа на пирамидалната структура, състояща се от следните основни елементи – нуклеус (прапрародители), размножителни ферми (прародители) и стокови стада (родители). Целта на тази производствена верига е получаване на угоени свине с висококачествено месо за консумация при минимални разходи и при спазване на стриктен контрол за предотвратяване предаването на различни заболявания между отделните стада. Основните предимства на тази система са строгото разпределение на труда между фермите от различните нива на пирамидата и сравнително бързото пренасяне на генетичния прогрес от нуклеуса до стоковите ферми. В нуклеусовите стада генетичният прогрес се постига чрез усъвършенстване на породите свине чрез провеждане на интензивна селекция и бърза смяна на поколенията по важни стопански показатели на животните. Тук се отглеждат минимум две породи, развъждани в чистопородно състояние, и чрез прилагане на изкуствено осеменяване се поддържа полово съотношение 1 бр. нерез: 7 – 80 бр.

женски животни. Индивидите от тази част на пирамидалната структура формират т.нар. бащини и майчини линии, а най-добрите екземпляри преминават във второто ниво на пирамидата – прародителски стада. Оценката на генетичната стойност на животните се основава на техния произход и тестирането им по признаците, включени в съответната развъдна програма – дебелина на гръбна сланина, площ на мускулно око, брой живородени прасета, среднодневен прираст, скорозрялост, разход на фураж за килограм прираст, брой цицки при женските животни и др. Индивидите с ниски стойности при фенотипната преценка се бракуват, докато животните, селекционирани за бащини и майчини линии се инбридират. Женските свине от майчините линии се разпределят в отделните размножителни стада, а нерезите от бащините линии директно се разпределят в стоковите стада – т.нар. терминални нерези (Horris, 2001). В размножителните прародителски стада животните от майчините линии се кръстосват и така вследствие на проявения хетерозисен ефект се получават кръстоски първо поколение (F_1), съчетаващи най-добрите генетични качества от изходните породи. Получените хибридни женски индивиди се разпределят за стоковите стада. Свинете от размножителните стада се реализират на пазара като женски животни от първо поколение (F_1). Те циклично се осеменяват със семенна течност от терминални нерези, като се поддържа полово съотношение 1 бр. нерез: 150 – 200 бр. женски свине. Нуклеусите осигуряват собствен ремонт, като за целта се отделят 3 – 5% от произвежданите нерезчета за разплод и около 20% от женските прасета. За ремонт на размножителните стада се използват женски животни само

от нуклеусовите стада, а на стоковите стада женски родителски форми от размножителните стада (F_1) и нерези от нуклеусовите стада. По този начин се намалява до минимум степента на генетично изоставане от върха на пирамидата. Наред с безпорните предимства, тази система за хибридизация има следните недостатъци: голямо движение на животни между отделните ферми увеличаващо разходите за транспорт; ветеринарно-медицински риск от възможност за пренасяне на болести; неритмичност при постъпване на млади ремонтни животни; необходимост от изграждане на нов адаптивен механизъм при свинете и свързаните с това стресови явления; невъзможност от специализация на линиите като женски и мъжки, поради включването им в различни позиции, а ниската степен на диференциация и специализация намалява проявата на хетерозиса.

Непрекъсната ротационна система на хибридизация предполага постоянно използване на женски животни от крайния продукт в процеса на възпроизводство (избират се индивиди от генерацията предназначена за клане), като се купуват само определен брой нерези. По този начин отпада необходимостта от поддържане на големи племенни стада и репродуктори, създава се предпоставка за много строг отбор при женските животни, кръстоски от първо поколение (F_1), тъй като са собствено производство и броят им е голям, осигурява се ритмичност в процеса на производство и се избягват проблеми от технологичен характер при попълване на ремонта – не е необходимо изграждането на нов адаптивен механизъм. Същността на тази система на развъждане се състои в кръстосването на женски индивиди от първо поколение (F_1) с

чистопородни нерези в променлива последователност (ротация). Напр. при участието на четири породи (А, Б, В и Г) свинете-майки от първо поколение се покриват с нерези от четвъртата порода Г, след което във всяка следваща генерация последователно се използват нерези от породите А, Б, В и Г, като относителният дял на последната порода е 53,30%. Тази схема на хибридизация също има своите недостатъци свързани с намаляване на хетерозисния ефект поради използване на голям брой нерези и застъпване на поколенията, както и получаване на нестандартен краен продукт предвид големия относителен дял на финалната бащина линия (порода). Прилагането на ротационната система изисква предварително изучаване на комбинативната способност и последователността на породите, които ще се кръстосват.

Хибридизацията с плаващ (мобилен) нуклеус има предимства, изразяващи се в едновременното усъвършенстване на популацията и производството на ремонтен материал за целите на хибридизацията в самата ферма. Изисква се всички свине-майки и част от нерезите да бъдат от една и съща порода (линия). Най-добрите женски индивиди се използват за чистопородно развъждане (за собствен ремонт или продажба). Ремонтните свине и останалата част от свинете-майки се кръстосват с разплодници от друга порода/линия за получаване на родителски форми за стоковата част. Независимостта от другите ферми, при провеждане на своевременен ремонт на племенната и стоковата част в стопанството с голям брой свине, собствено производство, създава предпоставки за много строг отбор. Поради използване на животни с повече опрасвания за получаване на родителски форми за стоковата

част, като недостатък на системата е забавения генетичен прогрес (около 6 – 7 месеца).

За създаването на майчини линии в отделните схеми на хибридизация най-често се използват породите Голяма Бяла, Ландрас, Йоркшир и Дюрок, а за бащини линии съответно Пиетрен, Дюрок, Белгийски Ландрас и Хемпшир. Напоследък при някои хибридни комбинации като майчина форма се използват породите Мейшън и Полско-китайските свине които са с високо многоплодие и адаптивност.

За постигане оптимален икономически ефект от отглеждането на женски свине в производството, се препоръчва те да бъдат използвани максимално до седем опрасвания.

Технологията на изкуственото осеменяване се прилага на всички нива от системите на хибридизация при свинете, а използването на нерези с висока генетична стойност дава възможност за съкращаване на изоставянето при предаване на постигнатия генетичен потенциал.

Производственият цикъл в свиневъдството се състои от четири логично свързани помежду си технологични фази: запложданe – бременност, опрасване, отбиване и подрастване – угояване.

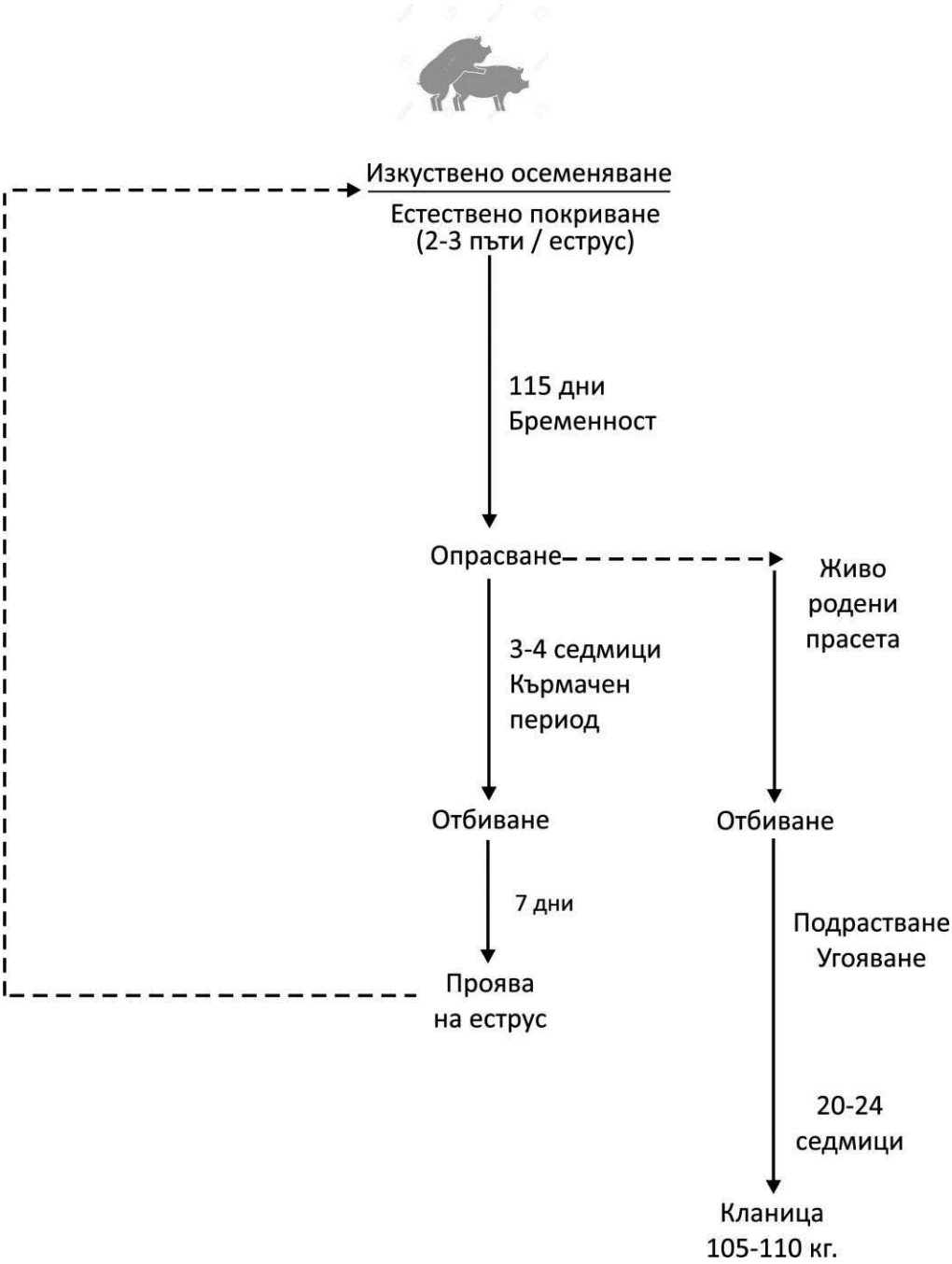
Фазата на запложданe обхваща периода на осеменяване на свинете-майки до 7 – 10 ден след отбиване (при 26 – 28 дни кърмачен период), както и на младите ремонтни животни при навършване на 210 – 220 дневна възраст с регистрирани поне два/три еструса с нормална продължителност. През този период те се отглеждат в индивидуални фиксатори, като между 26 – 28 ден от осеменяването се изследват за бременност. Животните с положителен резултат за бременност

сформират категорията „доказана бременност” и се отглеждат в групови боксове (10–12 бр.) при осигурена площ 2,2 м^2/гл. Свинете-майки, които не се заплодят при два последователни еструса след отбиване се бракуват и се подменят с млади ремонтни свине. Бременността при свинете продължава средно 114 дни (110 – 120 дни) при прилагане на ограничено хранене.

Опрасването се осъществява в индивидуални родилни боксове в помещения с контролиран микроклимат. Кърмачният период продължава 26 – 28 дни (3 – 5 седмици), като нито късият, нито дългият е изгоден от физиологична и икономическа гледна точка.

След отбиване на прасенцата (7,5 – 8,0 кг жива маса) те преминават в т. нар. „подрастващ период“ като се отглеждат до навършване на 60 – 65 дневна възраст и достигане на 25 – 27 кг жива маса. На този етап основно се преминава към хранене със сух комбиниран фураж и се реализира над 490 гр среднодневен прираст при 1,70 кг разход на фураж за кг прираст.

Фазата на угояване обхваща периода от 30 – 35 кг до достигане на 105 – 110 кг жива маса преди реализация на пазара. През цялото това време животните се отглеждат в групови боксове и се хранят „на воля” двуфазово: гроуер (от 30 – 35 кг до 65 – 70 кг) и финишер (от 65 – 70 кг до 105 – 110 кг). Угоителният период продължава 90 – 100 дни. В зависимост от генотипа на животните, технологията на отглеждане, нивото на хранене, възраст/жива маса, пол и др. фактори се реализира средно 720 гр. среднодневен прираст при прибл. 2,250 кг разход на фураж за кг прираст.

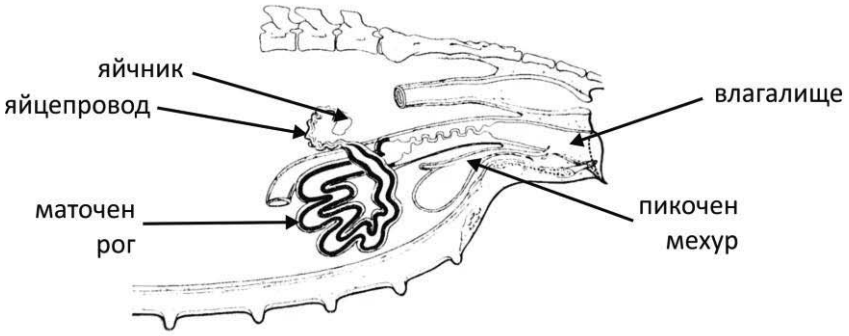


Фигура 1. Производствен цикъл в свиневъдството (Szűcs, 2013)

РЕПРОДУКТИВНА АНАТОМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ НА СВИНЯТА

Анатомично устройство на женската полова система

Половата система на свинята е съставена от два яйчника, два яйцепровода, матка, влагалище, влагалищно преддверие, вулва и клитор. Тя служи за развитие и отделяне на яйцеклетките, образуване на женските полови хормони, приемане на сперматозоидите, протичане на оплождането, осигуряване на ембрионалното развитие на фетусите и процеса на раждане.



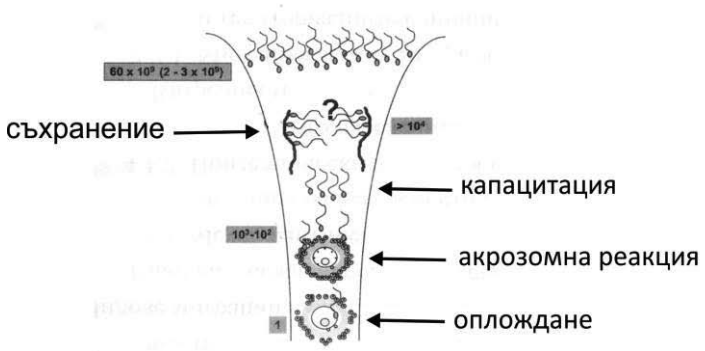
Фигура 2. Полови органи при свиня

Яйчниците имат две основни функции – репродуктивна (образуване на яйцеклетките) и ендокринна (синтезиране на женските полови хормони – естрогени и прогестерон). Яйцепроводите са мускулно-лигавични тръби с дължина 15 – 25 см, които свързват яйчниците с матката и служат за приемане на годните за оплождане яйцеклетки, осигурявайки срещата между тях и сперматозоидите. Пред яйчника те се отварят с обхващащо го фуниеобразно разширение (инфундибулум), което приема яйцеклетките след овулация и ги насочва към яйцепровода. Многократно извиващият се дистален дял на

яйцепровода се разширява в ампула с диаметър от 6 – 8 мм като в посока на матката изтънява и формира т.нар. истмус. В неговия край е разположен маточно-тубарен отвор с диаметър 2 – 3 мм, чрез който се осъществява връзката между яйцепроводите и маточните рога (Hunter, 1998). Матката е специализиран орган, състоящ се от маточни рога, тяло и шийка. Рогата на матката са с дължина 50 – 100 см, като при небременните животни са силно нагънати. Те представляват пътища за достигане на сперматозоидите до яйцепровода, както и среда за развитие на зиготите. Тялото на матката е относително късо – 6 – 8 см. То е прикрепено посредством перитонеална връзка, в която са разположени кръвоносните съдове и нерви. Шийката на матката при половозрели индивиди е дълга около 20 см и притежава наредени във форма на бразди лигавични образувания, изграждащи типичната спираловидна форма на цервикалния канал. Тя постепенно преминава в тялото на матката и във влагалището. Влагалището представлява еластична мускулна тръба с дължина 5 – 12 см и лежи в долната част на тазовата кухина. Тези два участъка на половата система притежават повишена секреционна активност на епителните клетки. Задната част на половата система (влагалищно преддверие) започва от мястото на отвора за пикочния канал. В долния ъгъл на вулвата се намира клиторът, играещ роля за приемане на дразненията по време на полов акт, като срамните устни са добре кръвоснабдени и инервирани.

Придвижване на сперматозоите в половата система на свинята

Процесът на придвижване на сперматозоидите от маточната шийка (мястото на аплициране на семенната течност) до ампуловидния участък на яйцепровода (мястото на оплождане) е комплекс от динамични взаимодействия между сперматозоидите и женския полов апарат, гарантиращ наличието на гамети с оплодителна способност за оплождане на овулиралите яйцеклетки. Основни фактори, регулиращи транспорта на гаметите в женския полов тракт са половите рефлекси и поведението на животните, химичният състав на семенната плазма на еякулата, състоянието на половата система на женските животни (контракции на маточната мускулатура, секреторната функция и динамиката на съкращаване на епителните клетки), яйцеклетките след овулация, фоликулярната течност и имунологичните взаимодействия от страна на женската полова система (Drobnis and Overstreet, 1992).



Фигура 3. Съхранение, отбор и придвижване на сперматозоидите в половата система на женските животни (Müller, Berg and Vitt, 2000)

Депониране на сперматозоидите в женската полова система

След естествено съешаване/цервикално изкуствено осеменяване при свинята милиарди сперматозоиди се депонират в маточната шийка, но само няколко хиляди от тях достигат до яйцепровода. Приблизително 1.0 – 3.0x10^5 бр. сперматозоиди достигат до маточно-тубарното съединение и само около 1.0 – 3.0x10^3 бр. гамети до каудалната част на истмуса (Mburu et al., 1996).

Придвижването на сперматозоидите до мястото на оплождане е резултат от комбинацията на активен и пасивен транспорт. Активният транспорт е в началната фаза на придвижването – от мястото на аплициране на спермата до проксималната част на матката и маточно-тубарното съединение (Scott, 2000). Пасивната фаза на придвижване на гаметите е вследствие на хемотаксиса от секретационната и миоконтрактивна активност на маточните рога, както и на обема аплицирана семенна течност след изкуствено осеменяване (Baker, Dziuk and Norton, 1968). Въпреки че честотата на маточните контракции е силно интензивна във фазата на еструса и подпомага транспорта и преразпределението на сперматозоидите в двата маточни рога, първоначалният сигнал за разпределение на половите клетки в матката вероятно е резултат от рефлекса на еякулация и количеството еякулирана сперма (Hunter, 1982). В този случай, вероятно по-високият обем на еякулата при естествено съешаване (или в някои случаи на изкуствено осеменяване) има положително влияние при изтласкването на по-голямо количество семенна течност в маточно-тубарното съединение (Hunter, 1982). Биохимичният състав на спермалната плазма,

напр. съдържанието на простагландини, също стимулира миоконтрактивната активност на половата система при женските животни и подпомага разпределението на гаметите в репродуктивния тракт (Robertson, 2007). Значение за проява на маточни контракции, респ. разпределение на сперматозоидите в матката оказват и механичните стимули по време на покриване. Фактът, че самото наличие на половозрял нерез по време на провеждане на изкуственото осеменяване, е достатъчен стимул за активност на матката посредством освобождаването на окситоцин (Langendijk et al., 2002).

След естествено съешаване извършено в периода около овулация сперматозоидите се придвижват по-бързо до яйцепровода в сравнение със случаите при съешаване през ранните или късните фази на еструса (Hunter, 1991). В резултат на маточната мускулна активност, гаметите достигат яйцепроводите в рамките на няколко минути след естественото съешаване/изкуствено осеменяване (Hunter, 2012). Първата популация сперматозоиди, достигащи до яйцепровода чрез бързия транспорт са с по-ниска оплодителна способност (Overstreet and Cooper, 1978), в сравнение с тези, които по-късно постепенно преминават през маточно-тубарното съединение. Активният транспорт на гаметите, резултат от собствените движения на спермалните клетки, вероятно е от голямо значение, тъй като поддържа гаметите в секретите, образуващи се в полова система на свинете и по този начин намалява степента на адхезия към епителните клетки на ендометриума, същевременно и спомага за миграцията на сперматозоидите от проксималната част на матката към маточно-тубарното съединение и яйцепровода (Langendijk et al., 2002). В

някои проучвания (Gaddum-Rosse, 1981; Hunter, 2012) е изказана хипотезата, че собствените движения на сперматозоидите са основният фактор, определящ придвижването им от маточно-тубарното съединение към истмуса и яйцепровода.

Транспорт на сперматозоидите до депата за съхранение преди оплождане

Яйцепроводите имат съществена роля при размножаване на бозайниците, осигурявайки най-подходящите условия за преживяемост на гаметите. Този участък на половата система на женските животни има определена роля относно селекцията на сперматозоидите с оплодителна способност, основаваща се на тяхната морфология, подвижност, състояние на спермалната мембрана, ниво на вътреклетъчните калциеви йони и др. (Holt and Fazelli, 2010). В каудалната част на истмуса сперматозоидите се свързват с епителните клетки, където се съхраняват преди овулация и не се нарушава оплодителна им способност. Маточно-тубарният отвор при свинята има множество гънки, които по време на еструс под влияние на естрогенните хормони хиперемират, увеличават размерите си и в резултат се натрупват голям брой сперматозоиди. Suarez et al., 1991 приемат, че тази част на яйцепровода представлява своеобразен физиологичен „резервоар/депо за съхранение на сперматозоиди“ преди оплождане.

Фактори, определящи формирането на депата за съхранение на сперматозоидите преди оплождане

Прикрепването на сперматозоидите към епителните клетки на яйцепроводите е вследствие на взаимодействието на наличните въглехидрати в лигавицата и лецитиноподобните протеини в главичката на сперматозоидите (Suarez, 2002). Други фактори, оказващи въздействие върху тези процеси са количеството и химичният състав на секрета, отделящ се от яйцепровода, температурните разлики влияещи в една или друга степен върху формирането на резерви от сперматозоиди. Необходимо е да се отчете и влиянието на секрета, отделян от яйцепроводите. Йонният състав, pH, осмотичното налягане и наличието на макромолекули в него са в пряка зависимост от фазата на естралния цикъл и мястото на образуването му в яйцепровода. В средата на половия цикъл разликата в pH на секрета, образуван в ампуловидното разширение на яйцепровода и този, който се отделя от истмуса, е в границите на 0.3 – 0.7 единици, като във времето около овулация се повишава с 0.4 единици (Nichol, Hunter and Cooke, 1997). Вероятно тези варирания в стойностите на pH на секретите, отделяни от яйцепровода, са от голямо значение, понеже алкалната среда повлиява подвижността на сперматозоидите и осигурява оптимални условия за преживяемост на яйцеклетките след овулация. Съставът на този секрет варира, както по съдържанието на протеини (Killian, 2004), така и по съотношение между хиалуронова киселина и мукополизахариди (Tienthai et al., 2000).

Механизмът, по който сперматозоидите напускат този участък на половата система все още не е изяснен напълно въпреки факта, че този

процес е последователен и продължителен с най-ясно проявление в периода около овулацията (Mburu et al., 1996). Сперматозоидите се освобождават постепенно от епителните клетки и в резултат на повишената хиперактивация преминават през истмуса, придвижвайки се до мястото на оплождане. Вероятната причина за напускане на депото за съхранение е промяната в свързването им към епителните клетки на яйцепровода и/или промяната в самите спермални клетки (капацитация и хиперактивация) е в резултат на преминаването от синтезата на естрадиол във фоликулите към секрецията на прогестерон в периода около овулацията (Hunter, 2012). Предполага се, че повишаването на концентрацията на глюкозаминогликаните (главен компонент на обвивката на яйцеклетката) в периода на овулация вероятно също има отношение към протичане процеса на капацитация при сперматозоидите, както и към освобождаването им от мястото на тяхното депониране (Brüssow, Ratky and Rodriguez-Martinez, 2008). Може би влияние в този процес оказват и настъпилите температурни разлики в различните участъци на половата система. Известно е, че по време на овулация на яйцеклетките и след това се наблюдава повишение на температурата в участъка на депонираните сперматозоиди. Именно това активира спермалните клетки и подпомага тяхното отделяне от мястото на съхранение (Hunter, 2009).

Според някои проучвания промените, които настъпват в сперматозоидите по време на капацитация, също са свързани с механизма на отделяне на спермалните клетки от ендометриума. Процесът на капацитация е свързан с освобождаване на специфични

белтъчини от повърхността на спермалната клетка, това може да се разглежда като друг фактор, участващ в механизма на отделяне на сперматозоидите от епитела на яйцепровода (Flesch and Gadella, 2000; Gadella and Harrison, 2000; Petrunkina et al., 2001). Способността на сперматозоидите да поддържат оплодителната си способност в този участък на половата система зависи от фазата на половия цикъл е ограничена в рамките на 36 – 48 часа (Hunter, 1984). Само гамети, имали контакт с ресните на епителните клетки, притежават интактни липопротеидни мембрани и могат да бъдат определени като сперматозоиди с оплодителна способност. Нарушения в транспорта на сперматозоидите водят до липса на гамети с оплодителна способност на мястото на оплождане или до наличие на по-голям брой гамети и свързаното с това полиспермно оплождане. (Hunter and L'Eglise, 1971).

Транспорт на сперматозоидите в яйцепровода преди оплождане

Освобождаването на сперматозоидите от мястото на депониране и придвижването им до мястото на оплождане е главно под влияние на термотактични и хемотактични фактори. Хиперактивацията на гаметите настъпва в каудалната част на истмуса, намиращ се на значително разстояние от мястото на оплождане. Сперматозоидите могат да бъдат хиперактивирани най-вече под въздействието на таксиса (способността на сперматозоидите да се движат срещу изтичащия секрет от яйцепровода). Разликата между температурата в истмуса и ампуловидното разширение на яйцепровода е приблизително 2°C. Това е показател, че вероятно гаметите притежават способност да се

придвижват от „по-студени зони“ към „по-топли зони“ на половата система при женските животни (Bahat et al., 2003). Основният механизъм, по който сперматозоидите се придвижват до овулиралата яйцеклетка след като попаднат в ампулата на яйцепровода, най-вероятно е под влияние на хемотактични фактори. Главният хемоатрактант е прогестеронът, освобождаващ се по време на овулация. Той присъства във фоликулярната течност и се отделя от кумулусните клетки, обграждащи ооцитите (Chang and Suarez, 2010; Uñates et al. 2014). Предполага се, че концентрацията на калциевите йони също се увеличава по време на хемотаксиса на сперматозоидите, имайки стимулиращ ефект върху движението на гаметите (Yoshida and Yoshida, 2011). Температурата оказва влияние посредством активиране освобождаването на вътрешноклетъчните калциеви йони и свързаната с това активация на движението на сперматозоидите (Bahat and Eisenbach, 2010).

Останалите сперматозоиди след оплождане в женската полова система вероятно се подлагат на фагоцитация от епителните клетки или се елиминират в коремната кухина също чрез фагоцитоза (Suarez and Pacey, 2006).

В заключение може да се обобщи, че след естествено съешаване/изкуствено осеменяване сперматозоидите преминават през женската полова система под влияние контракциите на матката (пасивен транспорт) и собствените си движения (активен транспорт) до достигане на мястото на оплождане. От общия брой сперматозоиди, които се натрупват в шийката на матката след впръскване на дозата сперма, само

малка част от тях достига до яйцепровода, където се свързват с епителните клетки и формират депа за съхранение. В тези депа сперматозоидите остават до времето на овулация, когато се освобождават последователно под влияние на различни фактори, включващи епитела, секретите на яйцепровода и активността на гаметите (Coy et al. 2012).

Загуби на сперматозоиди в половата система на женските животни след изкуствено осеменяване

Много малък брой от гаметите попаднали в женската половата система след изкуствено осеменяване, достигат до яйцепровода. В повечето случаи загубите на сперматозоиди се отчитат по време на самия процес на осеменяване, както и при придвижването им през матката. Известни са два механизма, свързани със загубата на сперматозоиди – имунологичен (миграция на голямо количество левкоцити в лумена на матката) и механичен (обратно изтичане на впръсканата доза семенна течност от половите органи).

Матката може да се разглежда като имунологичен орган, променящ състоянието си в зависимост от фазата на половия цикъл и по този начин се засягат популациите от левкоцити в ендометриума (Taylor et al., 2009). Когато женското животно е във фаза на еструс, се наблюдава масивна миграция на левкоцити (основно полиморфноядрени неутрофили) в лигавицата (Taylor et al., 2009). При контакта им със спермата в тъканите на цервикса и матката се предизвиква серия от имунологични реакции и взаимодействия (Schuberth et al., 2008). След

естествено съешаване/изкуствено осеменяване в матката се усилва притокът на левкоцити, които се свързват със сперматозоидите и ги фагоцитират. В този аспект посочените имунологични процеси са логични от физиологична гледна точка, тъй като сперматозоидите са „чужди тела“ за женския организъм, вследствие на което се активира имунният отговор за тяхното елиминиране (Schuberth et al., 2008). Протичането на този механизъм е нормален процес за отстраняване на сперматозоидите и бактериите, създаващ идеална среда за имплантиране на ембрионите (Troedsson, 1997; Rozeboom et al., 1998).

Този поток на левкоцити в маточния лумен се наблюдава в рамките на няколко часа след изкуственото осеменяване, като количеството им намалява до 24$^{-я}$ – 36$^{-я}$ час след впръскване на спермата в половите пътища на женските животни (Rozeboom et al., 1999). В резултат на него и последвалата го фагоцитоза намалява броят на впръсканите гамети. Счита се, че както сперматозоидите, така и спермалната плазма и сперморазредителят също имат отношение към активирането на левкоцитите. Редица изследователи (Clark and Klebanoff, 1976; Troedsson, Scott and Lui, 1995; Rozeboom et al., 1999) приемат сперматозоидите за основни хемотаксични фактори, включващи този процес.

Установено е, че спермалната плазма е основен протектор на сперматозоидите в матката, понижаващ хемотактичната и фагоцитозната активност на левкоцитите (Rozeboom et al., 1999; Katila, 2012). Rocha-Chavez, Troedsson and Rozeboom, 2000 посочват, че минимум около 12,5% от общото количество на естествената спермална плазма от нереза

е необходимо да бъде включена в дозата за изкуствено осеменяване. Rodríguez-Martínez et al., 2010 установяват, че гликопротеините в спермалната плазма индуцират миграцията на левкоцитите в матката и по този начин предизвикват появата на имунологични реакции при свинете във фаза на еструс. Според Taylor et al., 2009 компонентите на сперморазредителите също могат да бъдат ключов фактор за повишаване броя на левкоцитите в матката.

Други фактори, влияещи на левкоцитния приток в маточния лумен са овулационният статус, обемът/броят на сперматозоидите в дозата за осеменяване и компонентите на сперморазредителя. Някои автори (Taylor et al., 2009) установяват, че когато осеменяването е проведено преди и/или след овулация има различия в миграцията на левкоцитите. Matthijs, Engel and Woelders, 2003 твърдят, че понижаването на броя сперматозоиди в дозата за осеменяване, също намаля относителния брой нефагоцитозирани такива. Началото на левкоцитния хемотаксис на спермата е бърз и относително кратък процес. Предполага се, че левкоцитите имат отношение към елиминирането на мъртвите сперматозоиди от половата система, както и на тези с нарушен морфологичен статус (Tomlinson et al., 1992). Дискусионен остава въпросът дали фагоцитозата на сперматозоидите е селективен или произволен процес (Schuberth et al., 2008), гарантиращ ефективно отстраняване на сперматозоидите и бактериите, като фактор за възстановяване на ендометриума и подготвка за последваща бременност (Katila, 2012).

Известно е, че броят сперматозоиди, аплицирани в половата система, намалява значително в рамките на първите четири часа след осеменяване (Matthijs, Engel and Woelders, 2003). Освен фагоцитозата на сперматозоидите, друг оказващ влияние фактор е обратното изтичане на сперма от половите пътища. При естественото покриване изтича приблизително една трета от еякулата, вероятно вследствие на маточните контракции след съешаването (Einarsson, 1980). Установено е, че спермалната плазма стимулира моториката на матката (Einarsson and Viring, 1973), а най-вероятната причина за това е съдържанието на естрогенни хормони в спермалната плазма (Langendijk et al., 2005). След осеменяване естрогенните хормони в матката индуцират отделянето на простагландини от ендометриума (Claus, 1990), като по този начин се увеличават нейните контракции (Langendijk et al., 2005) и това предизвиква обратното изтичане на спермата от половите пътища.

При прилагане на цервикалния метод за изкуствено осеменяване се констатира, че около 25 – 45 % от обема на впръсканата доза сперма изтича обратно от половите пътища (Steverink et al., 1998; Matthijs, Engel and Woelders, 2003). Zerobin and Spörri, 1972 твърдят, че контракциите в шийката на матката възпрепятстват придвижването на спермата. Ускорението им забавя транспорта в каудалната част на цервикса и едновременно с това е фактор за поява на обратното изтичане на сперма от половите пътища (Langendijk et al., 2005). На този процес въздействат и други фактори – време на осеменяване, възраст на животните и т.н. Според Zerobin and Spörri, 1972 контракциите в каудалната част на матката при цервикално осеменяване затрудняват

притока на сперма и вероятността от обратното изтичане на аплицираната семенна течност от половите пътища се повишава (Langendijk et al., 2005). По проучвания на Hernández-Caravaca et al., 2012 не са установени разлики в обратното изтичане на сперма при прилагане на постцервикалната техника на осеменяване с различен обем и брой сперматозоиди в доза. Същите автори изказват хипотезата, че вероятно времето на овулация и/или възрастта на животните могат да бъдат важен фактор, определящ количеството сперма, изтичащо обратно след нейното впръскване в половата система.

Контролирането на фагоцитозната активност на полиморфноядрени неутрофили към сперматозоидите и обратното изтичане на аплицираната сперма от половите пътища след осеменяване, е ключов елемент при повишаване ефективността от приложението на метода за изкуствено осеменяване при свинете. Използването на новите биотехнологии в свиневъдството (осеменяване с дълбокозамразена семенна течност, използване на сексирана сперма, прилагане на нови методи за впръскване на дозите сперма) изискват сравнително малък брой сперматозоиди. Познаването на механизмите, обуславящи загубите на сперматозоиди в половата система на свинята, ще подобри тяхната ефективност.

Отбор на сперматозоидите в женската полова система след изкуствено осеменяване

Фактът, че само няколко хиляди сперматозоиди достигат до яйцеклетката след осеменяване (Matthijs, Engel and Woelders, 2003)

предполага, че освен ефектът на обратно изтичане на дозата сперма и фагоцитозата от левкоцитите, гаметите преминават и през други процеси на селекция преди самото оплождане (Taylor et al., 2008). Съществуват различни механизми в половата система на женските животни, определящи популациите от най-жизнеспособни сперматозоиди за оплождане. Тези субпопулации гамети в някои случаи са частично и/или напълно недостатъчни за участие в процеса (Satake et al., 2006). Установено е, че всеки отделен разплодник продуцира определени субпопулации сперматозоиди, които могат да достигнат до яйцепровода и да оплодят отделените яйцеклетки (Holt, 2009).

При нормални условия сравнително малък брой сперматозоиди са необходими за протичане на процеса на оплождане и те се установяват в яйцепровода още на първия час след осеменяването (Hunter, 1981). Taylor et al., 2008 провеждат проучвания за *ex vivo* инкубиране на сперматозоиди в различни фракции на матката и установяват, че докато яйцепроводът има роля за резервоар на сперматозоиди с оплодителна способност, то задържането им в матката би могло да служи като фактор за запазване на жизнеспособните гамети, посредством обратния поток от половите пътища или за подпомагане процеса на тяхната капацитация. Soriano-Úbeda, Matás and García-Vázquez, 2013 посочват, че отборът на сперматозоиди в матката е характерен процес, който се проявява непосредствено след осеменяването (0 – 15 мин) и се активира по-късно (16 – 60 мин). Така в матката се селектират гаметите с най-висока подвижност, а тези с

понижен мотилитет се отстраняват чрез обратно изтичане от половите пътища.

Тези констатации са в унисон с проучванията при преживните животни, при които цервикалните крипти, посредством отделяния от тях секрет, “филтрират“ неподвижните сперматозоиди, предпазват гаметите от фагоцитоза и се явяват сигурни депа за съхранението им, осигурявайки надеждно транспортиране на жизнеспособните сперматозоиди в половата система (Mullins and Saacke, 1989).

Полов цикъл

Свинете са годишно полициклични животни, с понижена полова активност през топлите месеци на годината (юни-август), основно поради влияние на високата околна температура и ниската относителна влажност. Половият цикъл при свинята е средно 21 дена (с вариране в границите между 18 – 24 дена). Според някои проучвания 12 % от свинете проявяват еструс между $04^{.00}$ – $16^{.00}$ часа, а останалите 88 % след $16^{.00}$ часа. Продължителността на еструса трае 2 – 3 дена (при ремонтните свине 1 – 2 дена). Според Almond and Bilkei, 1994, половият цикъл при младите ремонтни животни и свинете-майки се подразделя на следните периоди: еструс (0 – 2 ден, фаза на проява на рефлекс на неподвижност към нереза), диеструс (3 – 15 ден, фаза на жълтото тяло) и проеструс (16 – 21 ден, фаза на растеж на фоликули).

Еструсът продължава 24 – 96 часа в зависимост от поредността на опрасване на животните и се характеризира както със специфични

промени в тяхното поведение (напр. търсене на контакт с нерез, проява на рефлекс на неподвижност при присъствие на мъжко животно и/или след упражняване на натиск с ръце или възсядане в кръстцовата област), така и с физиологични промени (зачервяване и набъбване на вулвата, наличие на воднисто-слузести изтечения), състояние на „стъклени“ очи и др.. Всички тези признаци са най-ясно отчетливи при присъствието на половозрял разплодник. Еструсът е началото на секрецията на естрогенните хормони от зрелите фоликули в яйчниците, стимулиращи отделянето на лутеинизиращия хормон от хипофизата, който от своя страна задейства механизма на овулация на яйцеклетките от Граафовите фоликули. След овулация яйцеклетките могат да бъдат оплодени до 8 часа, после настъпват дегенеративни процеси. Овулацията настъпва средно 24 – 56 часа след първите признаци на еструса (20% от свинете овулират до 24$^{-я}$ час, 22% между 24$^{-я}$ – 36$^{-я}$ час, 35% между 36$^{-я}$ – 48$^{-я}$ и 18% между 48$^{-я}$ – 60$^{-я}$ час от началото на еструса), а продължителността й е 1 – 7 часа. Нормално овулират 10 – 20 бр. яйцеклетки, като 30 % от тях са вътрематочни загуби.

Диеструсът е фазата на дегенерация на овулиралите фоликули и формирането на тяхното място на т. нар. жълто тяло, синтезиращо хормона прогестерон. Функцията му е да поддържа бременността при евентуално оплождане, подтискайки растежа и овулацията на нови фоликули. В случай, когато яйцеклетките не са оплодени, кортизолът отделен от надбъбречната жлеза, стимулира синтеза на простагландини от групата на $F_{2\alpha}$ от маточната лигавица, които дегенерират жълтото тяло. Това е съпроводено с понижение концентрацията на прогестерона в

кръвта, настъпващо приблизително на 16-я ден от половия цикъл (Singleton and Diekman, 2009).

По време на бременност половоцикличната дейност при свинете се преустановява, единствено жълтото тяло продължава да функционира, и секретира прогестерон. За нормалното й протичане е необходимо в маточните рога да се имплантират минимум 4 – 5 бр. ембриони. В края на бременността, под влияние на отделянето на простагладните $F_{2\alpha}$ от маточната лигавица и естрогенните хормони от плацентата, се стартира процесът на раждане който продължава около 2 – 3 часа. От друга страна, хормонът окситоцин отделящ се от хипофизата, стимулира контракциите на матката и рефлекса на отделянето на мляко. При отбиване на прасенцата се прекъсват стимулите от бозаенето, матката възстановява функциите си и нормално пълноценен еструс се в проявява рамките на 3 – 7 дни – т. нар. интервал отбиване – проява на първи еструс (Singleton and Diekman, 2009).

Фазата на проеструса започва от началото на синтезата на простагладните $F_{2\alpha}$ от маточната лигавица, които предизвикват регресия на жълтите тела. Това от своя страна, стимулира отделяне на фоликулостимулиращия хормон от хипофизата, индуциращ растежа на фоликулите (оогенеза). Обикновено на всеки яйчник се развиват 6 – 10 бр. фоликули, като отделяните от тях естрогенни хормони стимулират началото на следващия еструс (Singleton and Diekman, 2009).

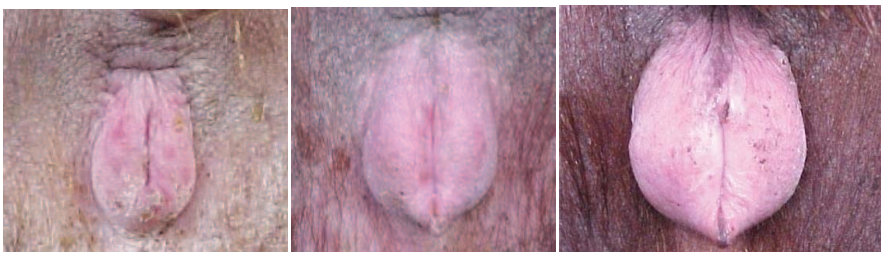
МЕТОДИ ЗА ИЗКУСТВЕНО ОСЕМЕНЯВАНЕ НА СВИНЕ

Установяване на еструса и определяне на оптималния момент за изкуствено осеменяване

Точното определяне момента на овулацията на яйцеклетките е от решаващо значение, понеже репродуктивните показатели са силно зависими от времето на осеменяване до настъпването ѝ. Soede and Kemp, 1997 посочват, че оптималният интервал от аплициране на семенната течност до овулацията е от 0 до 24 часа. Големите индивидуални вариации (както при свине-майки, така и при ремонтните животни), от появата на първите признаци на еструс до овулация, ограничават възможността осеменяването да се проведе в оптималното време (Steverink et al., 1999). Ремонтните свине имат по-къса продължителност на еструса в сравнение със свинете-майки и при тях времето за осеменяване, базирано от момента на проявата на естралните признаци, се различава от това при раждалите животни. Kaneko and Koketsu, 2012 препоръчват първото осеменяване при млади ремонтни животни да се извърши непосредствено след откриване на еструса, а второто 6 – 12 часа от началото на естралните признаци (табл. 1). Трябва да се отчетат факторите обуславящи броя, кратността и оптималния момент за изкуствено осеменяване – продължителност на еструса, интервал отбиване – проява на първи еструс и др. (Soede et al., 1995).

Еструсът (развиването) при свинете може да се определи чрез следните методи:

1. Визуално наблюдение на поведението на свинете и състоянието на външните полови органи – нервна възбуда, загуба на апетит, характерно грухтене, често уриниране, заскачане на други животни в бокса, състояние на “стъклени” очи, изменения в половите органи, изразени в набъбване и хиперемия на вулвата, както и наличие на воднисто-слузести изтечения от нея (не при всички животни).



Фигура 4. Състояние на външните полови органи при свинята по време на еструс.

2. Използване на нерез-пробник – за целта се избират млади, половоактивни индивиди. Първоначално разплодникът се прекарва бавно по пътеката между боксовете със свине, подлежащи на осеменяване. Женските животни, във фаза на еструс, реагират на присъствието на пробника и се приближават до преградата, за да търсят контакт с него. За гарантиране на висок процент открити свине, се препоръчва пробването на животните да се извършва двукратно – сутрин и следобед минимум по 15 минути и обикновено 1 час след хранене. Продължителността на използване на пробниците е до 60 минути, но най-висока ефективност има в първите 15 – 20 минути, след което половата им активност се понижава. Поради тази причина, се препоръчва да се използват няколко пробника на ротационен принцип. Важно условие е да се спазва постоянство при процедурата – да се

провежда в едни и същи часове през деня, и по възможност без смяна на персонала ангажиран с това. Присъствието на нерез-пробник оказва стимулиращ ефект за предизвикване на еструс при отбитите свине-майки и ремонтните женски животни.

Фигура 5. Определяне на еструса при свинята.

Оптималният момент за изкуствено осеменяване се установява чрез следните методи:

1. Определяне рефлекса за неподвижност – всички свине, показали интерес към нереза, се отделят в отделен бокс, където индивидуално чрез заскачане от пробника се тестват и се отчита рефлексът на неподвижност. Тази фаза на неподвижност може да се определи от самите гледачи чрез натиск или възсядане на животното в лумбалната област.

2. Прилагане на феромонни препарати – напоследък редица фирми произвеждат и предлагат синтетични феромонни препарати под формата на аеорозол във флакони. Те се пулвелизират на разстояние 30 – 50 см от рилото на свинята за 1 – 2 сек., при което животните във фаза на еструс проявяват характерната вцепенена стойка, наостряне на ушите и повдигане на опашката. Ефектът от прилагането на тези препарати е

по-голям, ако се комбинира с натиск на свинята в кръста и придърпване на кожата в хълбочната област.

3. Използване на естрометър – този метод се основава на промените в специфичното електросъпротивление на влагалищния секрет, изменящ се през различните фази на половия цикъл и зависещ от съдържащите се в него електролити (соли). Използват се различни модели естрометри, чиито електроди се поставят във влагалището и отчитат електросъпротивлението.

Проблемите при определянето на еструса са свързани главно с вариране на външните му прояви под влияние на сезонните фактори, наличие на стресови условия, пренаселеност на животните в бокса, недостатъчна/липса на светлина, висока концентрация на вредни газове във въздуха, грешки от гледачите при определянето му, неправилно организиране на откриването (липса или недостатъчен брой нерези, както и използване на пробници с ниско либидо), неточна индентификация на животните и т.н.

При еднократно откриване на еструса (обикновено сутрин) животните, проявили характерния рефлекс за неподвижност, се осеменяват веднага, а второто осеменяване се провежда на другия ден сутринта.

Във ферми, където се прилага еднократно откриване на еструса, около 30% от животните не се регистрират. При двукратно откриване на еструса свинете, проявили признаците на развиване през сутринта, за първи път се осеменяват същия ден следобед, а за втори на следващия ден сутринта.

Таблица 1. Схеми за осеменяване на ремонтни свине

кратност на осеменяване		1-ви ден	2-ри ден	3-ти ден
двукратно	сутрин	**еструс** **I-во осеменяване**	**еструс** **II-ро осеменяване**	√
	следобед	√	√	√
трикратно	сутрин	**еструс** **I-во осеменяване**	**еструс** **III-ро осеменяване**	√
	следобед	**еструс** **II-во осеменяване**	√	√

Ако еструсът е открит следобед, първото осеменяване е на следващия ден сутринта, а второто следобед на същия ден (табл. 2) .

Трябва да се има предвид и продължителността на интервала отбиване – проява на първи еструс. Известно е, че еструсът, проявяващ се на 3-я – 4-я ден след отбиване на свинете, е с по-голяма продължителност. Поради факта, че овулацията настъпва в последната третина на еструса, свинете не трябва да се осеменяват през първия ден след проявата на естралните признаци, а двукратно през втория ден (табл. 3).

Еструсът, проявен след 7-я ден от отбиването, е с по-малка продължителност и осеменяването трябва да се извърши през първия ден след установяване рефлекса на неподвижност.

Ausejo et al., 2017 препоръчват свинете, осеменявани на втория еструс след отбиване, да се разглеждат като «проблемни животни» и да им се прилага три-/четирикратно осеменяване, за да бъдат заплодени.

Таблица 2. Схеми за осеменяване на свинете в зависимост от кратността на откриване на еструса

кратност на откриване на еструса		1-ви ден	2-ри ден	3-ти ден
еднократно	сутрин **7.00 – 9.30**	**еструс I-во осеменяване**	**еструс II-ро осеменяване**	**ако прояви еструс III-то осеменяване**
	следобед	√	√	√
двукратно	сутрин **7.00 – 9.30**	**еструс**	**еструс II-ро осеменяване**	**ако прояви еструс III-то осеменяване**
	следобед **15.00 – 17.30**	**еструс I-во осеменяване**	√	√
	сутрин **7.00 – 9.30**	√	**еструс I-ро осеменяване**	**ако прояви еструс III-то осеменяване**
	следобед **15.00 – 17.30**	**еструс**	**II-ро осеменяване**	√

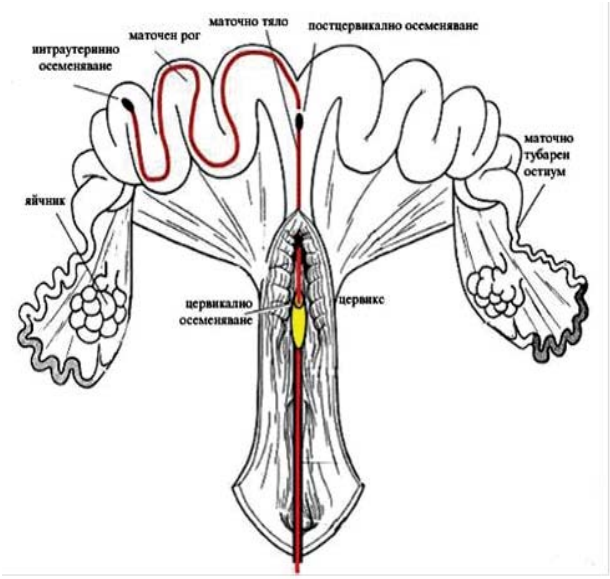
Основната цел при изкуственото осеменяване е да се осигури достатъчен брой сперматозоиди с висока оплодителна способност в мястото на оплождане преди самата овулация. При естественото покриване сравнително голям обем еякулат (200 – 500 мл) с голямо съдържание на сперматозоиди (20 – 70 млрд) се впръсква в половата система на свинята.

Таблица 3. Схеми за осеменяване на свинете в зависимост от интервала отбиване-проява на първи еструс

интервал отбиване-проява на първи еструс		1-ви ден	2-ри ден	3-ти ден
3–4 дни	сутрин	**еструс**	**еструс** **I-во осеменяване**	**ако прояви еструс** **III-то осеменяване**
	следобед	**еструс**	**еструс** **II-ро осеменяване**	√
над 7 дни	сутрин	**еструс** **I-во осеменяване**	**еструс** **III-то осеменяване**	√
	следобед	**еструс** **II-ро осеменяване**	√	√

Освен предимства като санитарен контрол, използване на нерези с висок генетичен потенциал, контрол на качеството на семенната течност и др., приложението на метода оптимизира максималното използване на добиваните от разплодниците еякулати. На практика при естественото покриване един нерез запложда една свиня, докато при прилагането на изкуствено осеменяване чрез цервикалния метод на аплициране на семенната течност в маточната шийка с един еякулат е възможно да се проведат прибл. 20 – 25 бр. осеменявания

През последните две десетилетия се разработват нови стратегии при изкуственото осеменяване на свине. Идеята е малък обем от дозата сперма с необходимия брой сперматозоиди да се впръсква максимално близо до мястото на оплождане, без това да повлиява на заплодяемостта и многоплодието на животните. С тези методи значително се съкращава транспортът на гаметите през полова система на женските животни и се осигуряват оптимални условия за по-бързо достигне на сперматозоидите до яйцепровода преди настъпването на овулация. Целта на съвременните репродуктивни технологии в свиневъдството е да се оптимизира разреждането на свежите еякулати непосредствено след получаването им, с оглед намаляване обема на дозите за осеменяване и достигане до репродуктивните показатели (заплодяемост, процент опрасени животни и размер на прасилото) на класическия цервикален метод на осеменяване и естественото съешаване.



Фигура 6. Място на аплициране на спермата в женската полова система при различни методи за изкуствено осеменяване на свине (Belstra, 2002)

Цервикален метод за изкуствено осеменяване

Цервикалният метод за изкуствено осеменяване на свине е най-широко използваният начин за заплождане, въведен през 1950 год. и адаптиран от този при кравите (Ito, Niwa and Kudo, 1948; Polge, 1956). Техниката му е сравнително лесна за приложение в условията на масовата практика и основно представлява впръскване на дозата сперма в последната третина на маточната шийка. Използват се катетри за аплициране на спермата с прибл. дължина 50 см и съответно 7/4 мм външен/вътрешен диаметър. Дължината и формата им, са съобразени с тази на половия член на нереза - при свинете-майки върховете са със спираловидна форма, а при младите ремонтните животни с топковидна/сферична. Отделните фирми-

производители предлагат различни модели катетри за осеменяване, но научни проучвания за техния ефект върху репродуктивните показатели липсват. В повечето случаи във всяка конкретна ферма изборът на инструмент за осеменяване зависи от ценовите фактори и квалификацията на персонала провеждащ осеменяването.

Фигура 7. Техника на цервикално изкуствено осеменяване на свине.

През последните години са проведени редица проучвания за установяване резултата от приложението на цервикалния метод за впръскване на спермата в половата система. Flowers and Alhusen, 1992 провеждат сравнителни експерименти за установяване ефекта от естественото съешаване и стандартния цервикален метод за осеменяване на свине. За целта те извършват двукратно осеменяване в еструс с дози сперма от 60 мл/7 млрд броя сперматозоиди и получените репродуктивни показатели са сходни с тези от естественото съешаване. Watson and Behan, 2002 експериментират с три различни концентрации сперматозоиди в дозата за осеменяване – 1.0, 2.0 и $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди в обем 80 мл. Репродуктивните резултати от прилагането на доза $2.0x10^9$ бр. сперматозоиди са сходни с тези при доза $3.0x10^9$, докато при концентрацията $1.0x10^9$ бр. сперматозоиди драстично намалява процентът заплодяемост, броят

опрасени свине и размер на прасилото. Baker, Dziuk and Norton, 1968 провеждат сравнителни проучвания с дози съдържащи $5.0x10^9$ бр. сперматозоиди в различен обем на дозата – съответно 20, 100 и 200 мл, и получават най-висок процент оплодени яйцеклетки при обем на дозата 100 мл. Резултатите от практиката показват, че оптимални репродуктивни резултати се получава при прилагане на концентрация 2 – 3 млрд. броя сперматозоиди (минимум $1.0x10^9$ бр.) с обем на дозата 80 – 90 мл, гарантиращ 80 – 90% заплодяемост и 10 – 14 броя прасета в прасило (Ito, Niwa and Kudo, 1948; Polge, 1956; Martin Rilo, 1984; Steverink et al., 1998; Levis, Burroughs and Williams, 2002; Foote, 2002; Roca et al., 2006). В този случай, за да се осигури адекватно придвижване на сперматозоидите до мястото на оплождане, е необходимо използване на дози за осеменяване с голям обем (Baker, Dziuk and Norton, 1968).

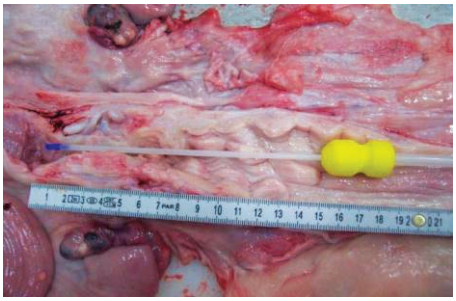
Постцервикален метод за изкуствено осеменяване

При използване на цервикалния метод за аплициране на семенната течност при свинете по време на еструса обикновено се прилага двукратно осеменяване (при проява на удължен еструс животните се осеменяват задължително и за трети път) с дози съдържащи 2 – 4 млрд. сперматозоиди. По този начин за заплождането на една свиня в еструс са необходими 4 – 12 млрд. сперматозоиди и възможността за получаване на по-голям брой дози сперма за осеменяване от един еякулат се ограничава.

С цел редуциране на необходимия броя сперматозоиди за заплождане са проведени много проучвания, свързани с контролиране момента на овулация, добавяне на биологично активни вещества към дозата за осеменяване и др., но най-ефективен начин за намаляването им в дозата за осеменяване се оказва методът за постцервикално осеменяване (трансцервикален способ). За първи път е експериментиран от Hancock and Hovell, 1961 и представлява нехирургичен начин за впръскване на спермата директно в края на маточното тяло, в областта преди бифуркацията (Gil, Tortades and Alevi, 2000; Watson and Behan, 2002; Rozeboom et al., 2004; Mezalira et al., 2005; Roberts and Bilkei, 2005).

За установяване на репродуктивните показатели при прилагане на постцервикалната техника за осеменяване в сравнение с цервикалния метод са проведени редица експерименти, свързани с оптимизиране броя на сперматозоидите и обема на дозата. Катетърът за постцервикално осеменяване е конструиран на базата на използвания в практиката стандартен катетър за цервикално осеменяване, с дължина 70 – 72 см, завършващ със спираловиден или топковиден/сферичен връх. В него е поставена гъвкава канюла (сонда) с дължина прибл. 85 – 95 см. Така конструираният катетър позволява съкращаване на необходимото за впръскване на спермата в половата система време само до няколко секунди, докато при цервикалния метод то е 5 – 7 минути. След провеждане на процедурата първоначално се изважда постцервикалната сонда, а при

отстраняването на стандартния катетър, с въртеливи движения се предизвикват механични стимули на маточната шийка, вероятно оказващи стимулиращ ефект върху процеса на овулация на яйцеклетките. Докато при постцервикалния метод основен елемент е правилно впръскване на дозата сперма в маточната шийка, то при постцервикалния способ акцента е върху точното въвеждане на постцервикалната сонда в половите пътища.



Фигура 8. Позиция на катетъра при постцервикално изкуствено осеменяване на свине.

Hernández-Caravaca et al., 2012 използвайки различни дози семенна течност провеждат проучвания с над 5 000 бр. свине за установяване на ефекта от приложението на постцервикалната биотехнология за осеменяване. Те установяват, че получените репродуктивни показатели (заплодяемост, процент опрасени свине и размер на прасилото) при постцервикалното осеменяване с доза 26 мл, съдържаща $1.0x10^9$ бр. сперматозоиди, са сходни с тези при прилагане на цервикално запложданe (80 мл./$3.0x10^9$ бр. сперматозоиди). След проведените експерименти най-високи репродуктивни показатели са получени при постцервикалното впръскване в маточното тяло на дози 40 мл с $1.5x10^9$ бр.

сперматозоиди. Сходни репродуктивни резултати са достигнати и от други автори (Watson and Behan, 2002; Mezalira et al. 2005; Araujo et al. 2009), провеждащи сравнителни проучвания чрез прилагане на постцервикален способ за запложданe с намалена доза сперматозоиди (1.0 – 2.0x10^9 бр.) и използване на цервикален метод за осеменяване. Те констатират, че както при постцерикално осеменяване, така и при цервикалния метод, броят сперматозоиди в цервикалните крипти и каудалната част на истмуса на яйцепровода е приблизително един и същ. Други автори (Gil, Tortades and Alevia., 2004; Mezalira et al., 2005; Araujo et al., 2009) при прилагане на дози за осеменяване от 0.5x10^9 бр. сперматозоиди, получават сходни показатели както при цервикалния метод, докато Rozeboom, Reicks and Wilson, 2004 използвайки същия брой сперматозоиди за осеменяване, установяват понижение в броя опрасени свине и размера на прасилото.

Приложението на постцервикалния способ за аплициране на сперма при изкуствено осеменяване на свине има редица предимства (Gil, Tortades and Alevia, 2002; De Alba Romero, 2013) в следните сфери:

<u>Станциите за получаване, обработка, съхранение и транспорт на сперма от нерези:</u>

1. Позволява оптимизиране на общия брой сперматозоиди в дозата за осеменяване чрез понижаване от 3.0x10^9 бр., използвани при цервикалния метод до 0.5 – 1.0x10^9 бр. Според Mezalira et al., 2005 при

първия метод се получават до 2 000 бр. дози от нерез на година, докато в този случай при постцервикалната техника с 1 млрд. сперматозоиди, получените дози от един разплодник може да се повишат до 300%.

2. Постига се намаляване обема на дозата до 15 – 30 мл в сравнение с 80 – 100 мл, прилагана при стандартния цервикален метод на осеменяване.

3. Позволява максимално използване на елитните нерези за заплождане на по-голям брой животни, водещо до ускоряване на генетичния прогрес в свиневъдството. По данни на EUROSTAT (Garcia-Vazques et al., 2019) за 15 годишен период (2002 – 2017 год.) броят на отглежданите разплодници в специализираните станции в Европейския Съюз е намалял наполовина, като съответното полово съотношение нерез : женски животни се е увеличило от 1:35 – 30 до 1:65 – 75.

Свинефермите:

1. Създава възможност за значително редуциране на времето, необходимо за осеменяване на животните, водещо до намаляване и на трудовите разходи в големите ферми. Hernández-Caravaca et al., 2012 посочват, че цервикалното осеменяване се провежда средно за 2.76±0.63 мин., докато постцервикалната техника е за 1.12±0.05 мин. Впръскването на дозата семенна течност в гениталния тракт е много бързо (няколко секунди), а гънките на маточната шийка не са проблем за транспорта на гаметите, понеже сперматозоидите се освобождават

в близост до мястото на оплождане. При използване на цервикалния метод, е необходимо катетърът да остане в половите пътища още няколко минути след манипулацията по осеменяване, за да се сведе до минимум обратното изтичане на аплицираната сперма.

2. Намаляване броя на нерезите (постигане на полово съотношение 1 бр. разплодник : 400 бр. женски животни), както и разходите за тяхното закупуване и отглеждане. Максималното използване на малък брой селекционирани разплодници ще доведе до получаване на по-висок процент изравнени свине за угояване.

3. Снижаване възможността за обратно изтичане на дозата сперма след осеменяване. При прилагане на цервикалния метод инциденти за обратно изтичане на аплицирана сперма от половите пътища може да се наблюдава при около 25 – 45% от случаите, докато при постцервикалната техника, това се отчита едва при около 15% от животните (Steverink et al., 1998; Matthijs, Engel and Woelders, 2003; Hernández-Caravaca et al., 2012). Установено е, че при доза 26 – 45 мл навън изтича прибл. 37 – 39% от обема й (15% от съдържащите се в нея сперматозоиди), докато при цервикалната техника съответно 54% (25%).

4. Значително повишаване на репродуктивните показатели, при запложданe с дълбокозамразена семенна течност от нерези (Casas et al., 2010; Roca et al., 2011). В тази връзка Kaeoket et al., 2010 посочват, че при постцервикален метод на осеменяване с криоконсервирана

сперма, обемът на дозата трябва да е 60 мл и да съдържа 2 млрд. живи сперматозоиди.

Тези предимства могат да бъдат обобщени в следните по-важни теоретични постановки:

1. В случай че при постцервикалния метод се прилагат дози за осеменяване от 1 млрд. сперматозоиди, е необходимо да се използва сперма с високи качествени показатели по отношение на подвижността и процента на гаметите с нормална морфология. Въпреки че спермата се аплицира на около 20 см в маточното тяло, сперматозоидите трябва да преминат разстояние от прибл. 80 – 130 см през маточните рога, за да достигнат до мястото на оплождане. По време на транспортната фаза в половата система, в резултат на слепване към епителните клетки на маточната лигавица и имунологичната „атака” от страна на полиморфноядрените левкоцити броят на гаметите в дозата за осеменяване значително намалява.

2. Обемът на дозата при постцервикалния метод е от решаващо значение за крайните репродуктивни показатели. Обикновено прилагането на дози от 30 мл е вследствие на дву-/трикратно разделяне на стандартната доза за класическия метод от 80 – 90 мл. Така обемът става определящ за придвижването на сперматозоидите през маточната шийка, маточното тяло и маточните рога до яйцепроводите, т.е. за осигуряване на необходимия брой гамети с висока оплодителна способност в двата маточни рога.

3. Времето, необходимо за манипулацията по фиксиране на катетъра за постцервикално осеменяване в половите пътища, е значително повече в сравнение с класическия цервикален метод. Моделите катетри за постцервикалния метод са сходни с тези при класическия метод, но са окомплектовани с дълга гъвкава постцервикална сонда. За да се избегне травмирането в половите пътища на свинете, вследствие на приложението на катетрите за постцервикално осеменяване, въвеждането на метода във фермите изисква адекватно обучение на персонала ангажиран с осеменяването. Неправилната техника повишава риска от предизвикване на инфекциозни заболявания в половата система на женските животни.

4. Обратното изтичане на част от дозата семенна течност, след впръскването й в половите пътища на свинята, не е зависимо от мястото на аплициране на спермата, и не е свързано с крайните репродуктивни показатели (Steverink et al., 1998; Rath, 2002). Това се приема за критична точка в технологията за изкуствено осеменяване на свинете. Според горецитираните автори обратното изтичане на сперма, след впръскването й в половата система, при всички методи на осеменяване е адекватна физиологична реакция на матката. При 98% от случаите фазата на бързия транспорт на гаметите до яйцепровода след осеменяването е в първите 30 минути след впръскването на дозата семенна течност. Може би вследствие на непълно отпускане на маточната шийка или ранно/късно осеменяване

и свързаната с това трудна проходимост на цервикалния канал се наблюдава изтичане на сперма от половите пътища .

5. При неправилно проведена постцервикална техника без осигурен необходим брой сперматозоиди на мястото на оплождане се повлияват процентът заплодяемост и размерът на прасилото (Levis, Burroughs and Williams, 2002).

Методът може да се прилага, както при раждали животни, така и при ремонтни свине (Dimitrov et al., 2007; Araujo et al., 2009). При втората категория, поради по-малките размери на маточната шийка и свързаните с това проблеми при вкарване на катетъра в половата система, способът не е толкова ефективен. Bortolozzo et al., 2015 съобщават за само около 44% случая на успешно преодоляване на маточната шийка от постцервикалната канюла. С цел релаксация на маточната шийка за по-лесното въвеждане на катетъра са проведени проучвания (Hernández-Caravaca et al., 2013) за използване на невротропни препарати за инжектиране на животните преди провеждане на осеменяването.

Наред с безспорните предимства на постцервикалния метод, е необходимо да се посочат и някои недостатъци, изразяващи се в следните аспекти:

1. По-висока цена на катетъра. В случаите, когато се използва сперма от високоелитни разплодници, цената на катетъра е напълно оправдана (Roca et al., 2011).

2. Нужда от необходимо време и средства за адекватно техническо обучение на персонала, който ще прилага метода.

3. По-трудно приложение при ремонтните свине и животните на първо опрасване.

4. Необходимост от повече време при манипулациите по вкарване на катетъра в полова система на женските животни.

5. Потенциален риск от нараняване на цервикса и маточното тяло при неправилна работа. Инцидентите за травмиране на половите органи, изразени в кървене след манипулациите по осеменяването, са по-ниски при прилагане на метода при многораждали свине, прибл. 2 – 9% (Levis, Burroughs and Williams, 2002), в сравнение с ремонтните животни и тези след първо опрасване – 15 – 23% (Sbardella et al., 2014; Diehl et al., 2006). В проучвания на Diehl et al., 2006; Sbardella et al., 2014 е установен негативен ефект от кървенето на половите органи върху репродуктивните показатели, докато Rozeboom, Reicks and Wilson, 2004; Serret et al., 2005 не установяват такава зависимост.

6. Фактът, че върхът на сондата на катетъра навлиза директно в маточното тяло изисква необходимост от спазване на висока хигиена при провеждане на манипулацията.

7. Въвеждането на постцервикалната техника е свързано със значително намаляване броя на нерезите, използвани в програмите за изкуствено осеменяване. Влиянието на качествените показатели на получаваните еякулати върху репродуктивните показатели от всеки индивид може би ще бъде 2 – 3 пъти по-голямо, сравнено с

използването им при цервикалния метод на заплождане (Mezalira et al., 2005; Hernández-Caravaca et al., 2012). Обуславя се необходимостта от технологично преоборудване на съществуващите станции към обособяване на високоспециализирани производствени единици за производство на дози семенна течност, при спазване на висока биосигурност и строг контрол на получаване, преценка и обработка на добиваните еякулати. Най-добър вариант е тези станции да произвеждат дози семенна течност само за един конкретен метод за осеменяване (напр. за постцервикално осеменяване). Поради факта, че този метод се прилага ограничено при ремонтните свине, е необходимо да предлагат и дози семенна течност за стандартното цервикално осеменяване.

За оценка на икономическата ефективност от приложението на трансцервикалния метод за изкуствено осеменяване на свине Levis, Burroughs and Williams, 2002 разработват компютърен модел, базиран на софтуерния пакет Microsoft Excel (http://porkinfo.osu.edu). С него е установено, че при ферми със „затворена система на изкуствено осеменяване", общата цена за едно заплождане при цервикално осеменяване е 10.34 USD и 11.57 USD при трансцервикалния метод, докато при ферми купуващи дози сперма, цената е съответно 8.20 USD и 9.49 USD. В експерименти, проведени в Аржентина е константирано, че при дози от 100 мл./3.0 × 10^9 бр. сперматозоиди при цервикално осеменяване, 50 мл./1.5×10^9 бр. и 30 мл./1.0×10^9 бр. при трансцервикално осеменяване, цената на една доза е съответно 3.41

USD, 3.63 USD и 3.17 USD (Levis, Burroughs and Williams, 2002). Използвайки същия компютърен модел, специалистите от фирма Magapor (Испания) стигнат до извода, че цената на стандартна доза с 3.0×10^9 бр. сперматозоиди за цервикално осеменяване е 3.431 USD, а цената за доза от 1.5×10^9 бр. и 1.0×10^9 бр. за постцервикално осеменяване е 3.630 USD и 1.905 USD. При аналогични проучвания в нашата страна, Димитров и кол., 2006 изчисляват, че себестойността на доза от 100 мл./3.0×10^9 бр. сперматозоиди е 3.42 лв. (цервикално осеменяване) и 1.71 лв. за доза от 50 мл./1.5×10^9 бр. (трансцервикално осеменяване). Основният икономически ефект от приложението на трансцервикалния метод за осеменяване се изразява в по-голямата чиста печалба, получена от отбитите прасета (Димитров и Кацаров, 2008).

С въвеждането на постцервикалния метод драстично ще се намали броят на използваните разплодни нерези, в резултат на което продажната цена на разплодниците ще се увеличи приблизително с до 40 %. Нарастването на цената на нерезите ще се отрази и върху цената на получаваните дози семенна течност. На сегашния етап на развитие на свиневъдството популацията от използваните за разплод нерези е съставена сравнително еднородни генетично селектирани и изравнени индивиди. В резултат от въвеждането на постцервикалния метод и намаляване броя на използваните нерези, би трябва да се очаква повишаване на изравнеността на разплодниците. Това създава предпоставка за разплод да се използват само нерези с висока

генетична стойност, което ще има решаващо влияние върху селекционните признаци – напр. при свинете за угояване върху месната продуктивност (разход на фураж, среднодневен прираст, съдържание на постно месо в кланичните трупове, мраморираност и др.), а при майчините линии върху тяхната възпроизводителна способност (майчини качества, млечност, брой на цицките, размер на прасилото, едроплодие и др.) (Bolarin, 2019).

В заключение може да се посочи, че цената на дозата семенна течност ще е определяща за икономическата ефективност от приложението на постцервикалната техника. Според Levis, 2004 цената на доза сперма за осеменяване се формира от „генетичната стойност“ на нереза, броя сперматозоиди в дозата, разходите по отглеждане на разплодниците и печалбата. Тези фактори ще определят различната цена на дозите семенна течност, съдържащи различен брой сперматозоиди. Независимо от по-високата цена на използваните катетри и разхода на труд при производството на по-голям брой дози за осеменяване, общите разходи при прилагане на постцервикалната техника на заплождане са по-ниски в сравнение със стандартния цервикален метод (Hernández-Caravaca et al,. 2012).

Ефективността от приложението на постцервикалния метод за заплождане зависи от конкретната производствена структура на дадената ферма. При стопанства произвеждащи само отбити прасета, ползите се формират от икономията на труд и по-ниската цена на дозите сперма, докато при тези със „затворен цикъл” на производство

те се допълват от получаването на по-голям процент изравнени угоени прасета вследствие от максималното използване на високоелитни разплодници.

Интраутеринен/дълбокоматочен метод на изкуствено осеменяване

Поради факта, че значително малък брой сперматозоиди от впръсканата при осеменяване доза достигат до яйцепроводите, са проведени проучвания за установяване на възможността за аплициране на дози сперма с малък брой сперматозоиди максимално близо до мястото на оплождане чрез метода за дълбокоматочно/интраутеринно осеменяване (Krueger, Rath and Johnson, 1999). При експеримента се използва хирургичен начин за впръскване на дози, съдържащи 500 млн. сперматозоиди, близо до маточно-тубарния остиум, като получените резултати са сравнително добри. Следващият етап в развитието на метода е разработването на нехирургичен метод за въвеждане на семенната течност в маточните рога. Martínez et al., 2001 разработват фиброоптична техника за нехирургично дълбокоматочно осеменяване, без предварителна анестезия на животните. Въпреки получените добри резултати, основният проблем на тази техника е главно високата цена на използвания за осеменяване ендоскоп и невъзможността за масовото му приложение в условията на практиката. Някои автори експериментират с нови модели катетри, разработени на базата на ендоскопа, използван в по-ранни опити (дължина 1.80 м, 4 мм външен

диаметър и 1.80 мм вътрешен диаметър) и със сравнително по-ниска цена. В този случай, както и при цервикалния метод, се използва същият модел катетър, който се фиксира в маточната шийка и през него се въвежда канюлата/сондата за дълбокоматочно осеменяване през маточното тяло и маточния рог (Vázquez et al., 2008). Тази техника позволява значително намаляване на необходимия брой сперматозоиди за осеменяване – 150.00×10^6 бр. (приблизително 20 пъти намаление в сравнение с дозите сперма, използвани при класическия метод за осеменяване) като резултатите по отношение на заплодяемостта са сходни с тези при използването на цервикалния метод, но с по-малък брой прасета в прасило. Това по своему представлява потенциални икономически загуби (Vázquez et al., 2008).

Фигура 9. Позиция на катетъра при дълбокоматочно изкуствено осеменяване на свине.

Фактори, ограничаващи приложението на метода при условията на масова практика, са следните:

1. Високата цена на катетрите за провеждане на процедурите и трудността на техниката при изпълнение им в промишлените ферми (Da Costa et al., 2011).

2. Рискът от причиняване на наранявания в матката (Bathgate et al., 2008) предвид анатомичното устройство на половата система на свинята.

3. Възможният риск от поява на инфекции в половите органи (Carabin et al., 1996).

На сегашния етап от развитието на репродуктивните технологии в промишленото свиневъдство, основно методът намира приложение при осеменяване със сексирана сперма от високоелитни разплодници и дози дълбокозамразена семенна течност от нерези, получени от генно инженерство (García-Vázquez et al., 2011). Напоследък някои фирми-производители на технологично оборудване за изкуствено осеменяване на свине разработват и предлагат нов комбиниран катетър за постцервикално и дълбокоматочно впръскване на дозата семенна течност (Mozo-Martín et al., 2012). При този метод приблизително 80% от дозата се впръсква в маточното тяло, а останалата част близо до маточно-тубарния остиум. При използване на дози за осеменяване от 30 –50 мл, съдържащи 750 млн. сперматозоиди, са получени репродуктивни показатели, сходни с тези при цервикалната техника за осеменяване. Използвайки същия модел катетър, Gomez-Rincon, 2009 е получила 95% заплодяемост при

двукратно осеменяване с доза от 50 мл, съдържаща $0.700x10^9$ бр. сперматозоиди.

Интратубарен/лапароскопски метод за изкуствено осеменяване

Друг способ за осеменяване на свинете, даващ възможност за значително намаляване на необходимия брой сперматозоиди в дозата, е техниката на директно аплициране на гамети в яйцепровода чрез лапаротомия или т. нар. интратубарен метод, приложен успешно за първи път от Polge, Salamon and Wilmut, 1970. На сегашния етап на развитие на репродуктивните биотехнологии, методът може да се прилага чрез лапароскопия, която в сравнение с лапаротомията, има редица предимства:

1. Приема се като по-малко инвазивен метод за впръскване на сперма в матката или яйцепровода в сравнение с този на лапаротомията (Vázquez et al., 2008);
2. Предизвиква по-малък стрес и по-леко протичане на постоперативния период (Fantinati et al., 2005);
3. Процедурата по нейното изпълнение е сравнително бърза, прибл. 15 – 20 мин. на животно (Fantinati et al., 2005; Vázquez et al., 2008).

Прилагането на лапароскопското интратубарно осеменяване при свинете позволява използването на дози, съдържащи $0.3 – 1x10^6$ бр. сперматозоиди (Vázquez et al., 2008). Поради факта, че вследствие малкия обем на дозата за осеменяване, не е възможно да се

осъществи миграция на сперматозоидите в колатералния маточен рог, аплицирането на спермата се извършва в двата маточни рога (Fantinati et al., 2005). На сегашния етап приложението на този метод в условията на промишленото свиневъдство е твърде ограничено. Факторите, възпрепятващи реализирането му са необходимостта от наличие на добре обучен екип, високата цена на процедурата и рискът от настъпване на полиспермия (Hunter, 1973; Vázquez et al., 2008).

При избора на един или друг метод за изкуствено осеменяване на свинете трябва да се отчитат производителността и рентабилността (Roca Aleu, 2014). Под производителност се разбира броят на родените и/или отбити прасета, вкл. тяхното тегло на всеки 100 бр. осемени свине-майки. Рентабилността се определя като разходи (катетър, доза сперма, цена на труда и др.) за всяко родено и/или отбито прасенце. Даден метод за запложданe може да бъде изгоден за една ферма, но да бъде неефективен за друга. Други фактори, обуславящи производителността и рентабилността във фермата са схемата по която се провежда осеменяването, типа на стопанството (нуклеус, прародителски или родителски стада) обуславяща наличието на нерези, видът на използваната сперма (свежополучена, охладена или криоконсервирана) и т.н.

Въз основа на производствени и икономически анализи Gonzalez-Peña et al., 2014 твърдят, че дълбокоматочното осеменяване е най-ефективно за приложение в нуклеусните ферми при използването на дълбокозамразена сперма, докато постцервикалният

метод е подходящ предимно за размножителните стада при производството на финалния продукт (свине за угояване) чрез използването на свежа или охладена семенна течност.

ИНСТРУМЕНТИ ЗА ИЗКУСТВЕНО ОСЕМЕНЯВАНЕ НА СВИНЕ

При разработване на инструментите за изкуствено осеменяване на свине трябва да се имат предвид няколко условия:

1. Необходимостта от осигуряване на минимум $0{,}05x10^9$ бр. жизнеспособни сперматозоиди в маточно-тубарното съединение, за да се гарантира висок процент заплодяемост и размер на прасилото (Rath et al., 1999).
2. В предвид анатомичните особености на женските полови органи да преодоляват съпротивлението на цервикалните гънки без да причиняват наранявания, както и да предотвратяват обратно изтичане от половите пътища на аплицираната сперма (Кьонинг, Загорски и кол., 1982; Sanchez-Sanchez, 2006).

В зависимост от поредността на опрасване, дължината на влагалището е 25 – 30 см. То постепенно преминава в цервикса (дължина 15 – 25 см) здраво затворен от намиращите се в него лигавично - мускулни възглавнички. Тези крипти обикновено са 7 – 8 броя завити наляво, а разстоянието между всяка една от тях е 10 – 15 мм, с дълбочина 7 – 10 мм (Полянцев и Подберезный, 1990). По време на еструса, вследствие на обилно кръвоснабдяване и набъбване на лигавицата, цервиксът се разхлабва и при съвкупление нерезът има възможност да вкара пениса в шийката на матката и да еякулира в предната част на цервикалния канал, така спермата постъпва директно в маточното тяло.

Фигура 10. Модели катетри за изкуствено осеменяване на свине.

Традиционните каучукови катетри, модел *Merlose* със спираловиден връх за многократна употреба, обикновено се използват от специалисти с голям опит, както и от разполагащи с голям брой нерези при „затворена система“ на развъждане. Този модел наподобява формата на пениса на нереза. Предвид многократно им използване и риска от бактериална контаминация на половата система на женските животни се налага задължително измиване и стерилизация след употребата им. Това е и причината за по-ограниченото им приложение в практиката.

През последните години за изкуствено осеменяване в свиневъдството се използват пластмасови катетри за еднократна употреба с по-ниска цена. Липсата на необходимост от почистване и стерилизация намалява риска от контаминация с микроорганизми в половия тракт на свинете. Те се различават по дължина (50 – 55 см), еластичност, форма и размери на върха (диаметърът на върха им при

ремонтните животни е 1,5 см, а съответно за основните свине – 2,0 см). При повечето модели накрайникът представлява плътно затваряща се капачка, която от една страна позволява надеждно херметично съединяване с флакона семенна течност, а от друга предотвратява изтичането на аплицираната доза сперма от катетъра и предпазва от навлизане на микроорганизми. Единият тип катетри са със спираловиден, дълъг и тесен връх с дължина 6 – 8 см, изработен от мек и гъвкав полимер, даващ възможност за лесно проникване и надеждно фиксиране в гънките на цервикалния канал, както и за дълбокоцервикално аплициране на дозата семенна течност. Тези модели са подходящи, както за осеменяване на свине–майки, така и за ремонтни животни. Някои оператори ги предпочитат, понеже след като бъдат извадени от половите органи на свинята, могат да преценят цвета и състоянието на цервикалния секрет. Тъй като по форма те се доближават до този на половия орган на нереза, при аплициране на спермата се стимулират маточните контракции. Понякога, особено през студените месеци на годината, когато върхът на катетърът вследствие на ниската температура губи своята еластичност се наблюдават проблеми, свързани с нараняване на цервикалния канал. Другият модел катетри са тези с топковиден/елипсовиден връх с дължина 3.0 – 3.5 см от мек, гъвкав и еластичен дунапрен (високопресован или порест) или силикон. Предимството им е, че не абсорбират цервикалния секрет и рискът от бактериално контаминиране се минимизира. Поради наличието на ограничителен

пръстен (дълбока бразда) в долната част на накрайника, не позволява катетъра да проникне в уретера и/или да нарани цервикса след фиксация и предотвратява обратното изтичане на семенната течност. Тези модели са подходящи за оператори с малък опит за осеменяване на млади ремонтни свине. Особено удачни са катетрите със силиконов накрайник, които под влияние на телесната температура при контакт със слизестата обвивка на половата система приемат формата на цервикалния канал, и свеждат до минимум триенето между върха на катетъра и маточната шийка. Повечето от тях се предлагат в индивидуални стерилни опаковки с предварително покритие от неспермициден гел, улесняващо проходимостта им в половите пътища.

За постцервикално осеменяване се използват различни комбинации от стандартни катетри за цервикално осеменяване със спираловиден или топковиден/елипсовиден накрайник (в зависимост от категорията животни), окомплектовани с мека гъвкава канюла (сонда) с дължина 70 – 80 см. С тях се осеменяват както свине-майки, така и ремонтни животни. Напоследък се предлагат и модели за постцервикално осеменяване с дължина 70 см и вътрешен диаметър 4,3 мм. Те позволяват дозата семенна течност с обем 30 – 50 мл да се впръска директно в маточното тяло, без да се използва помощта на стандартните катетри за цервикално осеменяване за въвеждане в половите пътища, благодарение на това, времето за манипулацията по осеменяване се ограничава до 2 минути.

За интраутеринно аплициране на спермата при свине-майки се използват пластмасови гъвкави сонди за дълбокоматочно осеменяване (дължина 180 см и диаметър 4.0 мм) в комбинация със стандартни катетри за цервикално осеменяване и въвеждане в половия тракт.

През последните години някои фирми разработват и предлагат комбиниран катетър за постцервикално и дълбокоматочно осеменяване. Той представлява стандартен катетър за цервикално осеменяване с дължина 50 см, окомплектован с гъвкава сонда с дължина 140 – 150 см. По протежение на тази сонда има два отвора – единият, разположен на 70 см от края й, а другият на нейния връх. Така 80 % от аплицираната доза сперма се впръсква в маточното тяло, а останалите 20 % в ампуло-истмичното съединение.

Поради анатомичните особености на половата система при младите ремонтни свине и свързаните с това проблеми при провеждане на постцервикалната техника на осеменяване, Llamas-Lopez et al., 2019 експериментират с нов инструмент за аплициране на дозата сперма, специално разработен за тази категория животни. Той представлява комбинация от стандартен катетър с дължина 52 см с монтирана постцервикална гъвкава канюла (дължина 65 см, 3 мм диаметър, с връх, представляващ заоблена пластмасова тапа с диаметър 17 мм, с разположени на нея отвори за впръскване на дозата сперма за осеменяване). С това устройство се постига 88,90 % успеваемост при вкарване на сондата в маточното тяло, и при

прилагане на доза от 45 мл. обем/1.5 млрд. сперматозоиди при еднократно осеменяване в еструс е получено 89,80 % заплодяемост и 12,0±3,50 бр. живородени прасета/прасило.

СОБСТВЕНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

Проучване ефекта от прилагането на различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата върху репродуктивните показатели на свинете

В проведения сравнителен експеримент 1 (табл. 4) със свине-майки от породата „Дунавска Бяла“ (Dimitrov, Jeliazkov and Levis, 2007) е установено, че методът на осеменяване, респ. броят на сперматозоидите в аплицираната доза, не оказва достоверен ефект върху стойностите на проучваните репродуктивни показатели (процент опрасени свине, среден брой общородени и живородени прасета в прасило), въпреки че е налице статистически недоказана тенденция за по-високи стойности при използването на цервикалния метод. Биологичният показател ИНДЕКС плодовитост* е съответно 713 (постцервикално изкуствено осеменяване) и 888 (цервикален метод на заплождане). Средната маса на живородено прасе при прилагане на постцервикалната техника е 1,63±0,05 кг, а при цервикалния метод на изкуствено осеменяване съответно е 1,43±0,03 кг ($p<0,01$).

При експеримент 2 (Dimitrov, Jeliazkov and Levis, 2007) след провеждане на постцервикално осеменяване с доза $1.5x10^9$ бр. сперматозоиди и цервикално осеменяване ($3.0x10^9$ бр. сперматозоиди) са установени репродуктивните показатели при ремонтни свине от породата „Дунавска Бяла“ (237 – 266 дн. възраст, прибл. 110 кг жива маса).

---

* ИНДЕКС плодовитост = процент опрасени свине х брой живородени прасета/прасило

Таблица 4. Репродуктивни показатели при свине в зависимост от използване на различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата ($\bar{x}$ ± SD).

Метод Брой сперматозоиди в дозата за осеменяване	n	Опрасени свине %	Общородени прасета бр.	Живородени прасета бр.
Експеримент 1 **свине-майки**				
постцервикален метод/1,5 x 10^9	32	82,07	9,04±0,73	8,68±0,69
цервикален метод /3,0 x 10^9	52	90,48	10,28±0,39	9,81±0,37
Експеримент 2 **ремонтни свине**				
постцервикален метод/1,5 x 10^9	19	89,47	9,07±0,76	8,69±0,66
цервикален метод /3,0 x 10^9	28	85,71	10,30±0,57	10,00±0,55
Експеримент 3 **свине-майки**				
постцервикален метод/1,5 x 10^9	52	78,85	12,80±3,38	11,72±4,23
постцервикален метод/1,0 x 10^9	54	72,22	13,19±2,92	11,11±2,74
цервикален метод /3,0 x 10^9	52	69,23	11,29±3,05	10,15±2,71

Независимо от статистически недоказаните разлики, по-висока стойност на показателя процент опрасени свине се наблюдава при постцервикалното осеменяване в сравнение с цервикалния метод за заплождане. По отношение размера на прасилото се установи статистически недоказана противоположна зависимост – получени са по-високи стойности при прилагане на цервикалната техника за осеменяване. Комплексният показател ИНДЕКС плодовитост е по-висок при цервикалното изкуствено осеменяване (857) в сравнение с постцервикалния метод на заплождане (777). При прилагане на цервикалната техника, средната жива маса на новородено прасе е 1,28±0,03 кг, а при постцервикалния метод на съответно е 1,58±0,06 кг ($p<0,01$).

В резултат на сравнително проучване от прилагането на трикратно постцервикално и цервикално осеменяване по време на еструс при свине-майки от специализираната майчина линия „Сребърна“ е установен по-висок процент опрасени животни (78,85%) с използване на доза $1,5x10^9$ бр. сперматозоиди при трансцервикалния метод. Сравнително по-ниски стойности са получени при цервикалния метод с доза $3,0x10^9$ бр. сперматозоиди – 69,23% и постцервикалната техника с доза от $1,0x10^9$ бр. сперматозоиди – 72,22%. Въпреки че се наблюдават по-високи стойности след прилагане на постцервикалната техника, броят сперматозоиди в дозата и методът на осеменяване не оказват статистически доказан ефект върху размера на прасилото. При отделните групи, сумарният показател ИНДЕКС плодовитост съответно е 1 022 ($1,5x10^9$ бр. сперматозоиди), 962 ($1,0x10^9$ бр. сперматозоиди) и

828 (3,0x10^9 бр. сперматозоиди) – експеримент 3 (Dimitrov, Nikolov and Kunev, 2009).

Проучване влиянието на интервала отбиване-заплождане при различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата върху репродуктивните показатели на свинете

Резултатите от експеримент 4 (Dimitrov, Jeliazkov and Levis, 2007), проведен с основни свине–майки от породата „Дунавска Бяла“ показват, че прилагането на различни методи на осеменяване, респ. брой на сперматозоидите в дозата, оказва недостоверен ефект върху стойностите на репродуктивните показатели, в зависимост от продължителността на интервала отбиване-проява на първи еструс/заплождане (табл. 5). Въпреки статистически недоказаната разлика е установено, че женските животни, проявили естрални признаци до шест дни след отбиване при използването на постцервикалния метод с доза 1.5x10^9 бр. сперматозоиди са с по-висок процент опрасени свине (86,40%) в сравнение с тези, проявили еструс след шестия ден от отбиването – 77.80%.

След прилагане на цервикалната техника на заплождане при индивидите, проявили еструс до шестия ден след отбиване, в сравнение с тези проявили еструс след шестия ден от отбиването (3.0x10^9 бр. сперматозоиди) е установена разлика от 1.6% за показателя опрасени свине.

Таблица 5. Репродуктивни показатели при свине в зависимост от интервала отбиване-заплождане при използване на различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата (± SD).

Метод Брой сперматозоиди в дозата за осеменяване	n	Интервал отбиване-заплождане дни	Опрасени свине %	Общородени прасета бр.	Живородени прасета бр.
Експеримент 4					
постцервикален метод/1,5 x 10^9	22	до 6 дни	86,40	9,00±0,80	8,53±0,77
постцервикален метод/1,5 x 10^9	10	над 6 дни	77,80	9,14±1,58	9,14±1,58
цервикален метод /3,0 x 10^9	29	до 6 дни	89,71	10,15±0,58	9,56±0,55
цервикален метод /3,0 x 10^9	23	над 6 дни	91,30	10,43±0,51	10,00±0,48
Експеримент 5					
постцервикален метод/1,5 x 10^9	67	до 6 дни	92.50^{B}		$10.05±2.77^{B}$
постцервикален метод/1,5 x 10^9	33	над 6 дни	81.81^{C}		10.00±2.30
цервикален метод /3,0 x 10^9	49	до 6 дни	100^{ABC}		$10.04±2.64^{A}$
цервикален метод /3,0 x 10^9	51	над 6 дни	88.23^{A}		$11.33±2.40^{AB}$
Експеримент 6					
постцервикален метод/1,5 x 10^9	24	до 4 дни	91,66		11.40±2.44
постцервикален метод/1,5 x 10^9	12	над 4 дни	100		$14.50±3.62^{B}$
постцервикален метод/1,0 x 10^9	26	до 4 дни	88,46		11.33±2.09
постцервикален метод/1,0 x 10^9	9	над 4 дни	66,66		10.00±4.76
цервикален метод /3,0 x 10^9	18	до 4 дни	100		10,94±2.52
цервикален метод /3,0 x 10^9	19	над 4 дни	68,75		$9.13±3.18^{B}$

ABC - Разликите в средните стойности, обозначени по колони с еднакви букви, са статистически достоверни (P<0.5)

Стойностите за размера на прасилото са в близки граници със статистически недоказани разлики, като се наблюдава тенденция за по-високи резултати след прилагане на цервикалния метод. Сравнен с постцервикалната техника, показателят ИНДЕКС плодовитост е с най-високи стойности при използването на цервикалния метод (съответно 865 – 913 и 711 – 737) при категорията *"животни с интервал отбиване-запложданe над шест дни"*. Относно живата маса на новородено прасе се установява противоположна зависимост – най-високи стойности са отчетени при постцервикалния метод (1,61±0,06 – 1,67±0,08 кг), в сравнение с цервикалната техника (1,48±0,05 – 1,37±0,04 кг) ($p<0,01$).

При аналогични проучвания – експеримент 5 (Dimitrov and Zmudzki, 2009) със свине от породата „Дунавска Бяла" статистически доказано е, че най-висок процент опрасени свине (100%) се наблюдава при използване на цервикалния метод за осеменяване с доза, съдържаща $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди при животни проявили еструс в рамките на шест дни след отбиването ($P<0.5$). По-ниски стойности на този показател (92,50%) са получени при прилагане на постцервикалната техника за запложданe с $1.5x10^9$ бр. сперматозоиди. И при двата метода се наблюдава тенденция за по-нисък процент опрасени животни при групата *„свине проявили еструс над шестия ден след отбиване"*, в сравнение с групата „животни проявили еструс до шестия ден след отбиване". По отношение на показателите, характеризиращи многоплодието се наблюдават сходни зависимости. Относно показателите брой общородени и живородени прасета в

прасило, разликата в стойностите между групата *„свине заплодени по цервикален метод при интервал отбиване-заплождане над шест дни“* и групата *„свине осеменени по постцервикален метод при интервал отбиване-заплождане до шест дни“* е статистически доказана (P<0.5). И при двата метода на заплождане (респ. брой сперматозоиди в дозата) е налице тенденцията за по-висок размер на прасилото при животните проявили еструс над шестия ден след отбиване. Стойностите на показателя ИНДЕКС плодовитост са по-високи при използване на цервикалния метод (999 – 1 004) в сравнение с тези при постцервикалната техника (818 – 929). И при двата метода на осеменяване категорията *“животни с интервал отбиване-заплождане до шест дни”* е с най-високи стойности на показателя ИНДЕКС плодовитост. Разликите в живата маса на новородено прасе при отделните групи са с ниски стойности и статистически недоказани.

В експеримент 6 (Dimitrov, Nikolov and Kunev, 2009), проведен с животни от специализираната майчина линия «Сребърна» при трикратно осеменяване в еструс, е установено, че най-високият процент опрасени свине е получен при групата „свине осеменени до четвъртия ден след отбиване” при цервикалния метод (доза $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди), както и при прилагане на постцервикалната техника с доза $1.5x10^9$ бр. сперматозоиди при групата *„свине осеменени над четвъртия ден след отбиване“* (100 %). Най-ниски са резултатите при животните, осеменени след четвъртия ден от отбиването – съответно при прилагане на постцервикалния метод с

доза $1.0x10^9$ бр. сперматозоиди (66,66 %) и цервикалния метод с доза $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди (68,75 %). Броят на общородените и живородените прасета в прасило следва установената зависимост – с най-високи стойности са резултатите при групата *„свине осеменени над четвъртия ден след отбиване"* чрез постцервикален метод с доза $1.5x10^9$ бр. сперматозоиди (15.00±2.21/14.50±3.62 бр.), а с най-ниски групата *„свине осеменени над четвъртия ден след отбиване"* чрез цервикален метод с доза $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди (9.88±3.64/9.13±3.18 бр.) ($p<0,05$). Показателят ИНДЕКС плодовитост е най-висок при постцервикално изкуствено осеменяване с доза $1.5x10^9$ бр. сперматозоиди (1 044 –1 450), следван от цервикалния метод с доза $3.0x10^9$ бр. (627 - 1 054), а най-ниски стойности са отчетени при постцервикалното изкуствено осеменяване с доза $1.0x10^9$ бр. (660 – 1 002). И при трите прилагани дози сперматозоиди за осеменяване най-високи стойности са установени при животните, заплодени до четвъртия ден след отбиване.

Проучване влиянието на поредността на опрасване при различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата върху репродуктивните показатели при свинете

В експеримент 7 (Dimitrov, Nikolov and Kunev, 2009) са проведени сравнителни проучвания за установяване зависимостта в репродуктивните показатели между поредността на опрасване на животните при прилагане на постцервикалната техника на осеменяване (дози съдържащи съответно $1.5x10^9$ и $1.0x10^9$ бр. сперматозоиди) и цервикалния метод за запложданe (доза $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди) при животни от специализираната майчина линия „Сребърна" (табл. 6).

Таблица 6. Репродуктивни показатели при свине в зависимост от поредността на опрасване при използване на различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата ($\bar{x}$ ± SD).

Метод **Брой сперматозоиди** **в дозата за осеменяване**	**n**	**Поредност опрасване**	**Опрасени свине %**	**Общородени прасета бр.**	**Живородени прасета бр.**
Експеримент 7					
постцервикален метод/1,5 x 10^9	18	I опрасване	90,00	13.09±2.45	12.81±3.06
постцервикален метод/1,5 x 10^9	16	II опрасване	100	12.66±1.58	11,33±1,30
постцервикален метод/1,5 x 10^9	16	над III опрасване	94,74	12.51±3.12	10.73±2.37
постцервикален метод/1,0 x 10^9	18	I опрасване	80,00	12.33±3.35	10.58±3.46
постцервикален метод/1,0 x 10^9	21	II опрасване	100	12.50±3.11	10.50±2.54
постцервикален метод/1,0 x 10^9	14	над III опрасване	71,43	14,75±3.27	12.25±2.37
цервикален метод /3,0 x 10^9	18	I опрасване	88,88	10.00±308	9.00±3.38
цервикален метод /3,0 x 10^9	17	II опрасване	100	10.57±3.04	10.14±2.54
цервикален метод /3,0 x 10^9	17	над III опрасване	76,47	13.30±3.08	11.33±2.60

Независимо от получените статистически недоказани разлики между отделните показатели при различните групи е налице тенденция за най-висок процент опрасени свине при животните на второ опрасване (100%). Сравнително по-ниски стойности са установени при групата *„свине над трето опрасване”*, съответно осеменени с доза $1.0x10^9$ бр. сперматозоиди – 71,43% и $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди – 76,47%. Броят на общородените и живородените прасета в прасило е по-висок при животните с повече от три опрасвания (цервикално осеменяване с доза $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди – 13,30±3.08 бр./1,33±2.60 бр. и постцервикално осеменяване с доза $1.0x10^9$ бр. сперматозоиди – 14,75±3.27 бр./12,25±2.37 бр. Комплексният показател ИНДЕКС плодовитост е с най-високи стойности при използване на постцервикалната техника на осеменяване – съответно при доза $1.5x10^9$ бр. сперматозоиди (1 016 – 1 152) и при доза $1.0x10^9$ бр. сперматозоиди (846 – 1 050). При цервикалния метод за заплождане с доза $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди стойността е най-ниска (799 – 1 040). И при трите дози, използвани за заплождане на свинете, стойностите на показателя ИНДЕКС плодовитост са най-високи при животните на второ опрасване.

Проучване ефекта от използването на синтетична плазма Predil MR-A® при различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата върху репродуктивните показатели при свинете

В експеримент 8 (Garcia Ruvalcaba et al., 2009; Garcia Ruvalcaba et al., 2010a; Garcia Ruvalcaba et al., 2010b) е изпитана възможността от

приложение на двуфазово цервикално и постцервикално осеменяване на отделни категории свине с различен брой сперматозоиди в дозата, комбинирано с употребата на синтетична плазма Predil MR-A®(табл. 7). Резултатите показват положителен ефект от предварителното впръскване на Predil MR-A® в матката, преди самото осеменяване. При групата *„свине-майки осеменени чрез постцервикалния метод”*, процентът опрасени свине е 92,31%. Сравнително по-ниски стойности на този показател са установени при животните от контролните групи, където не е използвана синтетична плазма – свине-майки (61,90%) и ремонтни животни (68,29%). По отношение размера на прасилото (общородени и живородени прасета) се потвърждава същата зависимост. При групите свине-майки и ремонтни животни с прилагане на двуфазово осеменяване със синтетична плазма Predil MR-A® както при цервикалния способ, така и при постцервикалния метод са получени по-високи стойности на показателите, сравнени с контролните групи (без предварително третиране със синтетична плазма). Логично стойностите на показателя ИНДЕКС плодовитост в съответните групи са 1 115,10; 681,61 и 712,00.

В проведения експеримент 9 (Димитров и Атанасов, 2011) със свине-майки и ремонтни животни от специализираната майчина линия «Сребърна» е направено сравнително проучване на постцервикално осеменяване с различни дози сперма ($1.5x10^9$ и $1.0x10^9$ бр. сперматозоиди) и цервикално аплициране на семенна течност (доза $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди) в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® при трикратно осеменяване по време на еструс. При

сравнителния анализ на двата метода се установява, че за показателя процент опрасени свине е налице статистически недоказана тенденция за понижение стойностите му при животни, осеменени с доза 1,0x10^9 бр. сперматозоиди – 75,00%, спрямо цервикалния метод на осеменяване – 83,33%. В сравнение с другите групи, със статистически недоказани разлики, броят общородени прасета в прасило – 12,10±3,29 бр. е най-висок при осеменяване на животните с доза, съдържаща 1,0x10^9 бр. сперматозоида в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A®. Очевидна е статистически доказаната разлика при броя на живородените прасета в прасило между групата свине осеменени в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® с дози 1,5x10^9 бр. сперматозоиди и 1,0x10^9 бр. сперматозоиди – съответно 8,66±2,93 бр. и 10,20±2,86 бр. ($p<0,05$). При цервикалния метод на осеменяване стойността на ИНДЕКС плодовитост е с най-високи стойности – 814, докато получените при прилагане на постцервикалната техника на заплождане с дози, съдържащи 1,0x10^9 бр. и 1,5x10^9 бр. сперматозоиди (било то в комбинация, или без синтетична плазма) са сравнително с по-ниски стойности (702 – 765).

В аналогични проучвания – експеримент 10 (Dimitrov, 2012) с животни от породата „Дунавска Бяла“ при двукратно изкуствено осеменяване в еструс, отново се доказва положителният ефект от приложението на двуфазовото постцервикално осеменяване в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® спрямо с цервикалното аплициране на семенна течност. В този експеримент процентът опрасени свине при постцервикално осеменяване с доза

$1,5x10^9$ бр. сперматозоиди в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® е 83,15%, докато при цервикалния метод без предварително аплициране на синтетична плазма Predil MR-A®с дози, съдържащи $3,0x10^9$ бр. сперматозоиди той е 76,74%. За разлика от тази зависимост при показателите характеризиращи размера на прасилото (брой общородени/живородени прасета), се установява противоположна взаимовръзка. Налице е статистически недоказана тенденция за по-добри резултати при групата свине, осеменени по цервикалния метод – 11,83±3,61 бр./10,75±3,18 бр., в сравнение с постцервикално осеменяване с доза $1,5x10^9$ бр. сперматозоиди в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® (10,79±3,39 бр./10,07±3,05 бр.). Положителният ефект от приложението на двуфазовото постцервикално осеменяване, в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A®, се изразява в по-високите стойности на показателя ИНДЕКС плодовитост при контролната група (837), сравнен с цервикалния метод на запложданe (824).

В експеримент 11 (Dimitrov, 2012) със свине от породата „Дунавска Бяла“ е установено, че в зависимост от продължителността на интервала отбиване-проява на първи еструс, двуфазовото постцервикално осеменяване, в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® има статистически недоказан ефект върху репродуктивните показатели при свинете (табл. 8). Въпреки констатираните статистически недоказани разлики при животните, проявили еструс до шестия ден след отбиване,

Таблица 7. Репродуктивни показатели при свине с използване на различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A®(± SD).

Метод Брой сперматозоиди в дозата за осеменяване	n	Опрасени свине %	Общородени прасета бр.	Живородени прасета бр.
Експеримент 8				
постцервикален метод/1,5 x 10^9 – свине-майки + Predil MR-A®	52	92,31	13,17±1,87	12,08±1,92
постцервикален метод/1,5 x 10^9 – свине-майки (контрола)	52	88,46	13,35±1,96	12,26±1,96
цервикален метод /3,0 x 10^9 –свине-майки + Predil MR-A®	27	74,07	9,80±0,80	9,20±0,86
цервикален метод /3,0 x 10^9 – свине-майки (контрола)	21	61,90	8,38±1,02	7,92±0,873
цервикален метод /3,0 x 10^9 – ремонтни свине + Predil MR-A®	48	75,00	10,47±0,44	9,50±0,49
цервикален метод /3,0 x 10^9 – ремонтни свине (контрола)	41	68,29	9,8917±0,59	9,00±0,67
Експеримент 9				
постцервикален метод/1,5 x 10^9 (контролна група)	57	82,46	11,80±3,15	9,76±2,83
постцервикален метод/1,5 x 10^9 + Predil MR-A®	53	81,13	10,73±3,04	8,66±2,93^A
постцервикален метод/1,0 x 10^9 + Predil MR-A®	40	75,00	12,10±3,29	10,20±2,86^A
цервикален метод /3,0 x 10^9 + Predil MR-A®	54	83,33	11,80±2,98	9,77±2,56
Експеримент 10				
постцервикален метод/1,5 x 10^9 + Predil MR-A®	88	83,15	10,79±3,39	10,07±3,05
цервикален метод /3,0 x 10^9 (контролна група)	85	76,74	11,83±3,61	10,75±3,18

А - разликите в средните стойности, обозначени по колони с еднакви букви, са статистически достоверни (P<0.5)

се потвърждава фактът, че постцервикалното осеменяване, комбинирано със синтетична плазма, води до по-висок процент опрасени свине (84,32%) спрямо другите групи. Най-висок размер на прасилото, макар и със статистически недоказани разлики, е установен при групата *„свине осеменени по постцервикалния метод над шестия ден, без прилагане на синтетична плазма Predil MR-A®”*. Най-ниски резултати при осеменяване чрез използване на синтетична плазма са получени при свинете, осеменени в периода над шестия ден от отбиване. Най-добрите репродуктивни показатели са получени при свинете, осеменени до шестия ден след отбиване (експериментална и контролна група). Стойностите на показателя ИНДЕКС плодовитост следват тази установена зависимост и са съответно 850 и 834.

Таблица 8. Репродуктивни показатели при свине при използване на различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® в зависимост от интервала отбиване-проява на първи еструс (± SD).

Метод **Брой сперматозоиди в дозата за осеменяване**	**n**	**Интервал отбиване-заплождане дни**	**Опрасени свине %**	**Общородени прасета бр.**	**Живородени прасета бр.**
Експеримент 11					
постцервикален метод/1,5 x 10^9 + Predil MR-A®	76	до 6 дни	84,32	11,00±3,13	10,09±3,05
постцервикален метод/1,5 x 10^9 (контрола)	46	до 6 дни	78,26	11,55±3,47	10,66±3,32
постцервикален метод/1,5 x 10^9 + Predil MR-A®	12	над 6 дни	75,00	10,44±3,39	9,77±3,03
постцервикален метод/1,5 x 10^9 (контрола)	39	над 6 дни	76,92	12,13±3,86	10,58±3,08

При проучване ефекта от приложението на постцервикалния метод за осеменяване, в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® в зависимост от поредността на опрасване – експеримент 12 (Dimitrov, 2012) с животни от породата „Дунавска Бяла“ е установено, че процентът родили свине без предварително третиране със синтетична плазма е 77,71 – 77,78%, докато при групите животни, заплодени чрез използване на комбинация със синтетична плазма, е по-висок – съответно 82,81% (животни с до пет бр. опрасвания) и 83,33% (свине с над пет бр. опрасвания) (табл. 9). За разлика от констатираната тенденция относно показателите, характеризиращи размера на прасилото, достоверно по-високи резултати са получени при свинете осеменени без синтетична плазма – 12,53±1,2,03 бр. общородени прасета при животни с над пет бр. опрасвания и 10,62±3,59 бр. живородени прасета при животни до пет бр. опрасвания ($p<0,05$). Стойностите на комплексния показател ИНДЕКС плодовитост са най-високи при свинете с над пет бр. опрасвания (840 – 897).

Анализът на получените резултати показва, че при прилагането на постцервикално изкуствено осеменяване на свине, с намален брой сперматозоиди в дозата ($1.0x10^9$ – $1.5x10^9$ бр.), се получават репродуктивни показатели по отношение процент опрасени свине, сходни с тези при цервикалния метод на осеменяване (доза, съдържаща $3.0x10^9$ бр. сперматозоиди). Подобна зависимост се наблюдава и при показателите, характеризиращи размера на прасилото (брой общородени и живородени прасета).

Таблица 9. Репродуктивни показатели при свине при използване на различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® в зависимост от поредността на опрасване ($\bar{X}$ ± SD).

Метод Брой сперматозоиди в дозата за осеменяване	n	поредност опрасване	Опрасени свине %	Общородени прасета бр.	Живородени прасета бр.
Експеримент 12					
постцервикален метод/1,5 x 10^9 + Predil MR-A®	64	до 5 бр. прасила	82,81	10,54±3,27^{AB}	9,56±3,05^{A}
постцервикален метод/1,5 x 10^9 (контрола)	67	до 5 бр прасила	77,61	11,63±3,95 ^{A}	10,62±3,59^{A}
постцервикален метод/1,5 x 10^9 + Predil MR-A®	24	над 5 бр.прасила	83,33	11,36±3,60	10,77±3,53
постцервикален метод/1,5 x 10^9 (контрола)	18	над 5 бр. прасила	77,78	12,53±1,2,03^{B}	10,80±1,42

AB - Разликите в средните стойности, обозначени по колони с еднакви букви, са статистически достоверни (P<0.5)

Получените по-високи репродуктивни данни в експеримент 3 вероятно се дължат на факта, че в тази ферма е приложено трикратно осеменяване по време на еструс.

При проучване влиянието на възрастта на животните/поредност на опрасване и прилаганата постцервикалната техника на запложданe, поради по-слабото развитие на половата система на ремонтните свине се установяват сравнително по-ниски резултати на процента опрасени животни (експеримент 2). Сравнително високите репродуктивни резултати за проучваните признаци при животните на първо и второ опрасване (експеримент 7), вероятно също са резултат от прилагането на трикратно осеменяване по време на еструс.

В настоящите експерименти се установява, че въпреки тенденцията за по-високи стойности на репродуктивните показатели при свине, осеменени до четвърти – шести ден след отбиване (експеримент 4, 5 и 6), интервалът отбиване-проява на първи еструс/запложданe след прилагане на постцервикалния метод не оказва статистически достоверно доказан ефект върху процента опрасени животни. За показателите, характеризиращи размера на прасилото, се констатират по-високи стойности при животните, заплодени след четвърти – шести ден от отбиването, което до известна степен противоречи на резултатите получени от други автори (Wilson and Dewey, 1993).

При проучване ефекта от двуфазовото постцервикално изкуствено осеменяване със синтетична плазма Predil MR-A® и

намален брой сперматозоиди в дозата (експеримент 8 и експеримент 9) се получават по-високи резултати по отношение процента опрасени свине, докато в експеримент 9 резултатите са по-ниски в сравнение с контролната група. Стойностите за размера на прасилото са сходни и със статистически недоказани разлики. Положителният ефект от предварителното впръскване на синтетична плазма преди аплицирането на дозата семенна течност в половата система на свинята е установен при животните, осеменени до шестия ден след отбиване. За разлика от тази тенденция, такъв резултат не е отчетен по отношение броя на общородените и живородените прасета в прасило. При сравнителното проучване за прилагане на постцервикално изкуствено осеменяване, в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A® отново се получават по-високи репродуктивни показатели, сравнени с тези при изкуственото осеменяване, без предварително третиране със синтетична плазма.

ФАКТОРИ ВЛИЯЕЩИ ВЪРХУ РЕПРОДУКТИВНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ НА СВИНЕ ПРИ ПОСТЦЕРВИКАЛНО ИЗКУСТВЕНО ОСЕМЕНЯВАНЕ

Обем и брой сперматозоиди в дозата семенна течност за осеменяване

При определяне минималния брой сперматозоиди в дозата за осеменяване, свързани с постигане на високи стойности на репродуктивните показатели, трябва да се имат предвид следните фактори: 1) качествени показатели на свежополучените еякулати; 2) състав на използвания сперморазредител; 3) степен на разреждане на семенната течност; 4) условия и срок на съхранение на дозите сперма; 5) точно определяне на еструса и оптималния момент за осеменяване и 6) технически умения при впръскване на спермата в половите пътища на свинята.

В табл. 10 са представени репродуктивни показатели при свине, получени след прилагане на различни методи за изкуствено осеменяване и брой сперматозоиди в дозите семенна течност.

Независимо от проведените многобройни експерименти и натрупаните статистически данни, не може да се даде еднозначен отговор относно ефективността от прилагането на постцервикалната техника за изкуствено осеменяване на свине в сравнение с цервикалния метод за заплождане. Тези експерименти са проведени при различни условия в отделните ферми (породна и възрастова структура на стадото, технология на отглеждане, качествени показатели на използваната семенна течност, квалификация на персонала, провеждащ изкуственото осеменяване и др.),

Таблица 10. Репродуктивни показатели при свине в зависимост от използване на различни методи за осеменяване и брой сперматозоиди в дозата.

Метод Брой сперматозоиди в дозата за осеменяване	Заплодени свине %	Опрасени свине %	Общородени прасета бр.	Живородени прасета бр.	Източник
$1,5x10^9$/ПЦИО		57,62-76,19		11,70-12,70	Rippel and Althouse, 2002
$3,0x10^9$/ЦИО		55,17-77,60		11,60-12,80	
$1,0x10^9$/ПЦИО		86,90		10,90	
$2,0x10^9$/ПЦИО		92,50		10,80	Watson and Behan, 2002
$3,0x10^9$/ПЦИО		90,50		11,00	
$3,0x10^9$/ЦИО		91,10		10,90	
$0,5x10^9$/ПЦИО		86,96-88,24		10,00-12,66	
$1,0x10^9$/ПЦИО		84,21-86,32		11,06-12,31	
$1,5x10^9$/ПЦИО		86,15		9,40	Gil, Tortades and Alevia, 2002
$3,0x10^9$/ЦИО		78,18		9,84	
$3,0x10^9$/ЦИО		81,82-94,12		11,88-12,94	
$1,0x10^9$/ПЦИО		87,50-94,12		9,58-10,44	Levis, Burroughs and Williams, 2002
$1,5x10^9$/ПЦИО		75,00-92,85		10,76-11,61	
$3,0x10^9$/ЦИО		79,20-96,77		10,03-12,23	
$0,5x10^9$/ПЦИО	86,60		9,40		Rozeboom, Reicks and Wilson, 2004
$1,0x10^9$/ПЦИО	88,20		10,00		
$3,0x10^9$/ЦИО	96,50		11,60		

$0,5x10^9$/ПЦИО		74,70	10,40		
$1,0x10^9$/ПЦИО		83,10	11,00		Serret et al., 2005
$2,0x10^9$/ПЦИО		80,7	10,30		
$3,5x10^9$/ЦИО		93,70	11,80		
$0,15x10^9$/ПЦИО	86,07	84,08	12,27		
$1,0x10^9$/ПЦИО	85,59	82,20	11,87		Izco, 2008
$3,0x10^9$/ЦИО	86,38	82,98	11,59		
$1,0x10^9$/ПЦИО	83,40	81,10	11,80		
$2,0x10^9$/ПЦИО	90,80	90,30	12,20		
$3,0x10^9$/ПЦИО	91,60	90,90	12,50		Rosca, Drugociu and Ronceanu, 2006
$1,0x10^9$/ЦИО	60,50	59,60	9,80		
$2,0x10^9$/ЦИО	87,90	87,40	12,10		
$3,0x10^9$/ЦИО	90,60	90,20	12,30		
$1,5x10^9$/ПЦИО	91,65	86,84	14,13	12,59	Hernandez-Caravaca et al., 2012
$2,0x10^9$/ПЦИО	90,37	84,08	13,87	12,16	
3,0x109/ЦИО	88,58	82,34	13,65	12,19	
$2,0x10^9$/ПЦИО		76,70-83,30	11,16-11,30	10,25-10,82	
$4,0x10^9$/ПЦИО		83,30-86,70	10,48-10,85	10,04-10,31	Apic et al., 2015
$2,0x10^9$/ЦИО		66,70-76,70	10,35-10,70	9,85-10,17	
$4,0x10^9$/ЦИО		73,30-83,30	10,64-10,77	10,16-10,27	

ПЦИО – постцервикален метод за изкуствено осеменяване
ЦИО – цервикален метод за изкуствено осеменяване

различен обем на дозата/брой на сперматозоиди, модели катетри, специфични схеми на експериментите, брой животни използвани при проучванията и др. В някои случаи са получени по-ниски резултати (Williams, 2002; Leyun Izco, 2004; Rozeboom et al., 2004; Roberts and Bilkei, 2005; Panzardi et al., 2010), при други експерименти резултатите са сходни (Gil, Tortades and Alevia, 2000; Watson and Behan, 2002; Valladares Morazan, 2003; Dallanora et al, 2003; Cuevas, Pedroza and Jimenez, 2005; Llanes Chale et al., 2007; Fitzgerald, Jones and Stalder, 2008; Dimitrov et al., 2007), а също така има и научни съобщения за по-високи резултати (Stancic et al., 2006; Gil and Nieto, 2006; Leyun Izco, 2008; Hernandez-Caravaca et al., 2009). Налага се мнението, че методът е удачен да се прилага във ферми с достигната до 90% заплодяемост при използване на цервикалната техника на запложданe, докато при тези стопанства с ниски репродуктивни показатели прилагането на този метод е нецелесъобразен. При въвеждане на постцервикалната техника би трябвало да се очаква с около 1,5 – 2% увеличаване на заплодяемостта. Въпреки, че към настоящия момент липсва стандартизация по отношение на дозата семенна течност прилагана при постцервикалната техника за изкуствено осеменяване, резултатите по отношение процента на опрасени свине и размера на прасилото при използвана доза с обем 45 – 60 см^3, съдържаща 1.5 – 2.0x10^9 бр. сперматозоиди с праволинейно постъпателни движения са сходни с тези при класическия цервикален метод (доза, съдържаща 3.0x10^9 бр. сперматозоиди). Употребата на дози за изкуствено осеменяване с намален брой сперматозоиди, е свързана с точното установяване на

фазата на еструса и оптималния момент за аплициране на спермата в половата система на женските животни, морфофункционалното състояние на гаметите и мястото на впръскването им в половата система, интервала отбиване-запложданe, кратността на осеменяване в еструс и др. Проучванията на Knox, 2004; Stancic et al., 2007; Stancic et al., 2010 показват, че по-високият брой сперматозоиди в дозата (над $2.0x10^9$ бр.) не повлиява заплодяемостта на животните, докато по-ниският брой е свързан с понижение на репродуктивните показатели. В конкретните условия на всяка отделна ферма този брой в дозата за осеменяване може силно да варира. Необходимо е да се отбележи, че само 5 – 6% от реализирания репродуктивен потенциал при свинете зависят от нереза и качествените показатели на продуцираната семенна течност, а останалите 94 – 95% включват своевременното определяне на еструса и оптималния момент за осеменяване, съхраняване на дозите семенна течност, кратността и правилната техника по провеждане на осеменяването и т.н. Във всички случаи трябва да се вземе предвид и обемът на дозата при постцервикално осеменяване – при по-голям обем се повишават заплодяемостта и размерът на прасилото, а дози под 40 мл водят до получаване на ниски репродуктивни показатели. Минималният обем на дозата сперма, впръскана в половата система на свинете, е определящ за адекватното придвижване на гаметите през маточните рога преди достигането им до мястото на оплождане в яйцепроводите. Всеобща е тенденцията за използване на по-големи обеми на дозата (45 – 60 $см^3$/1.5 – 2.0 x 10^9 бр. сперматозоиди), като за бъдеще се очертава

унифицирането й при двата метода на осеменяване – обем 70 см^3, съдържаща 2.0 – 2.2 х 10^9 бр. сперматозоиди (Pallas Alonso, устно съобщение).

Възраст на свинете/поредност на опрасване

Възрастта на свинете (респ. поредността на опрасване) е важен фактор, влияещ върху репродуктивните показатели на животните. Според проучвания на Cavalcante-Neto et al., 2008; Leite et al., 2011, основните проблеми по отношение на заплодяемостта, процента опрасени свине и многоплодието се наблюдават най-често при животните на първо/второ опрасване. Това е свързано с тенденцията за удължаване продължителността на интервала отбиване-проява на първи еструс/заплождане при тези категории животни. За това вероятната причина от една страна е, че свинете на тази възраст имат сравнително по-високи изисквания към хранителните вещества, необходими за техния растеж (тъй като те все още не са достигнали оптимални размери и жива маса), а от друга имат ограничени телесни резерви от белтъчини и мазнини. Завишените изисквания към храненето, свързани с разходване на хранителните запаси по време на кърмачния период и понижения апетит на животните, особено през топлите летни месеци са резултат от появата на негативен енергиен баланс в организма с преобладаващи катаболитни процеси. Всички тези фактори водят до инхибиране секрецията на лутеинизиращия хормон и подтискане зреенето на фоликулите, свързано с удължаване на периода отбиване-

проява на първи еструс, сравнен с този при свинете на второ, четвърто и пето опрасване.

Докато при прилагане на постцервикалната техника за изкуствено осеменяване при многораждали свине успеваемостта при въвеждането на катетъра в половите пътища е над 95% (75% при първи опит), то при младите ремонтни животни запложданн за първи път, и при тези след първо опрасване това създава технически затруднения (Bennemann et al., 1974; Watson and Behan, 2002; Dallanora et al., 2004; Diehl et al., 2006). Тези проблеми при посочените категории животни са свързани предимно с по-малкия размер на маточната шийка (дължина прибл. 4,3 см и диаметър на лумена 0,15 см), представляваща основна бариера при манипулацията предвид непълното развитие на репродуктивният им тракт (García-Vázquez et al., 2019). Според Garcia-Vazquez et al., 2018 в случая трябва да се разгледат следните аспекти: 1) общата дължина на влагалищното преддверие, влагалището и маточната шийка е сравнително по-малка в сравнение с тази при многораждалите свине; 2) дебелината на стената на шийката на матката в най-краниалната част до маточното тяло е по-голяма при свинете-майки, но е сходна с тази във влагалището при ремонтните животни. Мускулната тъкан при ремонтните свине е пропорционално по-добре развита от тази при многораждалите животни, и това от своя страна предполага по-нисък мускулен тонус при свинете-майки, и улеснява въвеждането на катетъра.

Проучвания на Diehl et al., 2006 показват, че когато се използват катетри за постцервикално осеменяване на свине-майки

при ремонтни животни, то при около 30 – 45% от случаите е невъзможно те да бъдат въведени в маточното тяло. Сходни резултати – 13% от случаите са установени при животни след първо опрасване (Sbardella et al., 2014). При експерименти за прилагане на постцервикална техника при нераждали свине чрез използване на специално разработен за тази категория животни катетър за осеменяване е постигната около 60% успеваемост (Hernández-Caravaca et al., 2017). Поради това се препоръчва този метод за осеменяване да се прилага на млади ремонтни животни след като са имали два/три предишни еструса (de Alba Romero, 2013; Llamas-Lopez, 2019). От една страна, размерът на матката варира в зависимост от преминалите полови цикли, а от друга вследствие на увеличения й капацитет и свързаните с това хормонални промени, възрастта при заплождане оказва влияние върху размера на прасилото (Tarocco and Kirkwood, 2002). При съвременните условия на развъждане в свиневъдството годишният ремонт на животните е приблизително 50% (Kraeling and Webel, 2015; Chantziaras et al., 2018), т.е ремонтните свине и тези на първо опрасване са най-голямата група в стопанствата (Bortolozzo et al, 2009). Следователно оптимизирането на репродуктивния потенциал на тези категории животни е от важно значение за развитието на производствените системи в свиневъдството.

Морфологията на гениталния тракт при свинете варира в зависимост от възрастта и броя раждания, като при всяко следващо раждане се получава постепенно уголемяване и отпускане на маточната шийка и все по-лесно преминаване на постцервикалната

сонда през цервикалния канал при провеждане на манипулациите при осеменяването (Watson and Behan, 2002). В редица експерименти се установява, че репродуктивните показатели при свинете (заплодяемост, процент опрасени животни и размер на прасилото) се увеличават до шесто опрасване (Serret et al., 2005; Dimitrov, Nikolov and Kunev, 2009; Hernandez-Caravaca et al., 2012). Обикновено след него, вследствие на спадане на маточните контракции, понижение качеството на аплицираната семенна течност и невъзможността на сперматозоидите да достигнат до мястото на оплождане, репродуктивните показатели при животните се понижават (Langendijk, Soede and Kemp, 2005). При животни с повече опрасвания, поради спадане на мускулния тонус на матката, придвижването на гаметите в половата система е забавено (Bille et al., 1974) и с цел да се достигнат по-високи репродуктивни показатели е необходимо при тази категория свине да се прилага постцервикално осеменяване с по-голям брой сперматозоиди в дозата.

Обратното изтичане на сперма от половите пътища на свинята след осеменяване зависи от възрастта и размера на животното, респ. на половата им система. Steverink et al., 1998; Hernandez-Caravaca et al., 2012 посочват, че при животните с по-малък брой опрасвания (два – три броя), този рефлекс се наблюдава по-често в сравнение с животните на повече прасила. Свинете с повече раждания имат по-големи размери на половата система и съответно по-слаби маточни антипересталтични контракции, улесняващи приемането на впръсканата доза семенна течност.

При сравнително изпитване на две дози за постцервикално осеменяване при свине с различна поредност на опрасване, Hernandez-Caravaca et al., 2012 от икономическа гледна точка препоръчват при животни с две – пет броя опрасвания да се използват дози съдържащи $1.0x10^9$ бр. сперматозоиди, а при свине с повече от шест броя опрасвания, поради понижената активност на маточната мускулатура и свързаните с това нарушения при придвижването на гаметите през половата система, изкуствено осеменяване с дози съдържащи $1.5x10^9$ бр. сперматозоиди.

На сегашния етап на развитие на постцервикаланата техника за условията на масовата практика методът се препоръчва при животни след първо опрасване и многораждали свине. Независимо от получените обнадеждаващите резултати при запложданe на ремонтни свине чрез този способ, масовото му приложение може да се наложи едва след необходимите допълнителни проучвания при тази категория животни. Според скорошни изследвания е установено наличието на значителни анатомични разлики в краниалната част на маточната шийка между многораждалите свине и младите ремонтни животни (García-Vazquez et al., 2019). Предвид тези разлики наскоро е разработен нов модел катетър за дълбокоцервикално изкуствено осеменяване на ремонтни свине, чрез който с намален брой сперматозоиди в дозата се постигат добри репродуктивни резултати (Llamas-López et al., 2019).

Сезонни фактори

Годишните сезони, с комплекса от фактори като температура, влажност, продължителност на светлинния ден и др., са определящи за протичане на репродуктивните функции при свинете. Общоизвестно е понижението на заплодяемостта през топлите месеци на годината, свързано с повишаване на анестралните и нередовни полови цикли, удължаване периода отбиване-проява на еструс/запложданe, ниския процент на опрасените свине и намаляване на броя на получените прасета в прасило (Kemp and Soede, 1996; Stancic, 1997a; Stancic, 1997b; Borchardt Netto, 1998; Stancic et al., 2002; Timotijevic et al., 2003). Според Gordon, 2004 причина за понижената заплодяемост на свинете през топлите сезони е негативният ефект от високата околна температура и удълженият светлинен ден. Възстановяването на активността на яйчниците след кърмачния период при свинята също е под негово влияние (Peltoniemi et al., 1999). Това от своя страна води до подтискане на нормалната секреция на гонадотропин-релизинг хормоните от хипоталамуса (респ. отделянето на фоликулостимулиращия хормон и лутеинизиращия хормон от хипофизата), в резултат на което постлактационната овулация се удължава и се подтиска манифестирането на естралните признаци (Prunier et al., 1996). Ефектът на повишената околна температура има индиректно влияние върху удължаване продължителността на периода отбиване-проява на първи еструс.. Известно е, че апетитът на животните е значително понижен по време на топлите летни месеци (Aherne and Kirkwood, 1985). Този недостик на енергия в организма

подтиска секрецията на лутеинизиращия хормон (Prunier et al., 1996) и времето на образуване и овулацията на фоликулите след отбиване, както и на периода отбиване-проява на еструс се удължават (Kirkwood, 2009). Дългият светлинен ден през лятото има и директен ефект върху понижената секреция на мелатонин и подтискане отделянето на гонадотропин-релизинг хормоните (Tast, 2002). Watson and Behan, 2002 посочват, че във фермите, оборудвани с надеждни системи за вентилация и охлаждане, до известна степен може да се елиминира негативното влияние на сезонните фактори.

Интервал отбиване-проява на първи еструс/запложданe

След технологичния кърмачен период при свинете, продължаващ 26 – 28 дни, между петия и седмия ден от отбиването на прасетата-бозайници се проявява първият естрален цикъл Според Weitze et al., 1994, в зависимост от продължителността на интервала на поява на естралните признаци след отбиване, той може да се класифицира като ранен, нормален и късен период. Обикновено животните, проявяващи ранни признаци (между трети и четвърти ден след отбиване) имат удължен естрален цикъл, свързан с понижение на основните репродуктивни показатели. Общоприето е мнението, че това влияе директно върху по-ниския процент опрасени свине и броя на получените прасета в прасило (Kemp and Soede, 1996; Stancic, 1997a; Stancic, 1997b; Borchardt Netto, 1998; Stancic et al., 2002; Timotijevic et al., 2003). Аналогична тенденция за прогресивно понижение размера на прасилото се наблюдава при животните с интервал на отбиване-

заплождане над пет-шест дни (Wilson and Dewey, 1993; Dimitrov et al., 2007).

При основните свине-майки, е установено, че по-ниският размер на прасилото е свързан с удължен период отбиване-заплождане (Wettemann and Bazer, 1985; Stancic, 1997a; Stancic, 1997b; Borchardt Netto, 1998; Stancic et al., 2000), създаващ субоптимални условия в матката на свинете и проблеми при транспорта и капацитацията на сперматозоидите след осеменяване. По статистически данни на PigChamp, 2012 при анализ на 203 141 бр. прасила е установено, че при среден интервал отбиване-заплождане 2,5 – 5,5 дни е получено 89,8 – 90,2% опрасени свине с 13,4 – 13,9 бр. общородени прасета/прасило, а при интервал 8 – 12 дни съответно 75% и 12,5 бр.

Ефект на разплодника

При проучване влиянието на нереза върху репродуктивните показатели при прилагане на постцервикалната техника за заплождане на свинете в отделни експерименти са получени противоречиви резултати.

В изследвания Watson and Behan, 2002 не установяват статистически доказан ефект на отделните разплодници върху основните репродуктивни параметри. При използване на нерези от бащини линии с различен генетичен произход е вероятно да се наблюдава известно влияние върху получените резултати, но този въпрос предстои да бъде проучен допълнително.

Mezalira et al., 2005 установяват, че индивидуалните качествени показатели от спермограмата на всеки отделен разплодник имат съществено значение при използването на дози за осеменяване, съдържащи намален брой сперматозоиди – т. нар. „ефект на нереза“.

В сравнение със стандартния цервикален метод на осеменяване, постцервикалната техника обикновено се провежда в отсъствието на нерез-пробник, което може би играе и съществена роля при преминаването на постцервикалната канюла през маточната шийка. Ulguim et al., 2018 установяват, че контракциите на маточната шийка са по-интензивни през първите 30 минути след стимулация на свинете с половозрял нерез-пробник в сравнение с животните, при които не е прилагана подобна биостимулация. Поради тази причина отсъствието на нерез-пробник по време на провеждане на манипулациите по постцервикалното осеменяване е често срещана практика, насочена към отпускане тонуса на маточната шийка, улеснявайки въвеждането на постцервикалната канюла.

Разреждане и съхранение на спермата преди осеменяване

С прилагането на постцервикалната техника за изкуствено осеменяване на свинете и с цел в една доза от 45 –– 50 мл. да се осигурят минимум 2.0×10^9 бр. живи сперматозоида се налага по-голямо разреждане на свежополучените еякулати. Това на практика се явява проблем, защото спермата при повечето нерези не може да се подлага на голяма степен на разреждане. Установено е, че семенната течност на само 20% – 30% от нерезите с разреждане при степен над

1+4 запазва минимум 65% подвижност на сперматозоидите при съхранение до 72 часа (Weitze, 1990; Stančić et al., 2002). Високостепенното разреждане на еякулатите (дози, съдържащи голямо количество сперморазредител и малък брой сперматозоиди) има негативен ефект върху морфофункционалното състояние на гаметите и е свързано с получаването на по-ниски репродуктивни показатели.

Същевременно, по-голямото количество сперморазредител в разредените еякулати намалява подвижността на гаметите, а процентът на аглутинация на сперматозоидите се повишава (Caballero et al., 2007; Maxwel et al., 2007; Stančić et al., 2012). При разреждането на спермата се понижава количеството на протеините, естествените антиоксиданти и други компоненти на спермалната плазма, необходими за нормалното функциониране и запазване на морфофункционалното състояние на клетъчната мембрана (Kommisrud et al., 2002; Strzežek, Wysocki and Kuklinska, 2005; Nasrin and Calogero, 2012). Спермалната плазма има ключова роля при капацитацията на сперматозоидите, образуването на спермалните депа (Hunter, 1981), модулирането на маточния имунен отговор (Rozeboom et al., 1999) и придвижването на гаметите в полови пътища на женските животни (O'Leary et al., 2004; Waberski et al., 2006; Rodríguez-Martínez et al., 2011). За алтернатива на негативното влияние от високостепенното разреждане на спермата, Roca Aleu, 2014 препоръчва т. нар. двукамерно съхранение на разредената семенна течност – в едната половина на флакона се разфасова сперма с ниска

степен на разреждане, а другата половина съдържа само сперморазредител, и двете фракции се смесват в момента на осеменяване. При сравнителни проучвания за постцервикално осеменяване с дози, съдържащи съответно 1,8x10^9 бр. и 2,4x10^9 бр. сперматозоиди е установено достоверно понижение на процента опрасени свине след четиридневно съхранение на сперма разредена с BTS сперморазредител (Merkat et al., 2000). Независимо че през последните години редица лаборатории и фирми предлагат на свиневъдната практика сперморазредители със състав и физико-химична характеристика, осигуряващи сравнително добра преживяемост и запазване на оплодителната способност на сперматозоидите при съхранение за период от пет до десет дни, е налице тенденция за понижение на репродуктивните показатели при осеменяване с продължително съхранена сперма (Fitzgelard et al., 2008; Johnson, Aalbers and Grooten, 1988; Vakanjac et al., 2017). Вероятно след определен период в дозите разредена семенна течност са налице понижен брой жизнеспособни гамети, водещи до образуването на по-малки спермални резерви в половата система на женските животни. Липсват научнообосновани данни за репродуктивните показатели свързани с ефекта от съхранение на дози семенна течност с различен обем, за по-продължителен период. Логично би било да се предположи, че при малък обем на дозата за осеменяване (напр. 20 см^3) е налице много бързо охлаждане на разредената сперма в процеса на съхранение, което би имало негативен ефект върху оплодителната способност на сперматозоидите.

При проучвания за скоростта на охлаждане при разредена сперма, Luongo et al., 2020 установяват, че дози с обем 45 мл./1,5 x 10^9 сперматозоида достигат до темпретурата на съхранение (16° C) за 137 минути, а тези от 80 мл./2,7 x 10^9 сперматозоида за 217 минути. При проведената преценка на разредените еякулати след съхранение не се установени достоверни разлики в качествените показатели при двата типа дози. Резултатите от това проучване показват, че при съхранение както на дози за постцервикално осеменяване, така и на такива за цервикалния метод, може да се използват сходни процедури, въпреки че различните криви на охлаждане. Разработването на сперморазредители за дълготрайно съхранение на сперма би могло да минимизира до известна степен деструктивните процеси, настъпващи в гаметите в процеса на тяхното съхранение и да подобри репродуктивните показатели след осеменяване с намален брой сперматозоиди в дозата. Тъй като в случая обемът на дозите е намален, а това е свързано с редуциране на необходимото количеството сперморазредител, то цената и инвестициите за разработването на нови протективни среди са по-големи. Прецизната преценка на качествените показатели на добиваните еякулати е от съществено значение, понеже при постцервикалната техника на осеменяване се използват по-малък брой сперматозоиди, а последиците от евентуални загуби на спермални клетки са по-осезаеми.

Добавка на биологично активни вещества в половата система на свинете и дозите сперма преди осеменяване

Използването на изкуственото осеменяване като метод за заплождане на свинете, сравнен с естественото съешаване, елиминира естествените стимули на нереза, свързани с процеса на оплождане. Поради получаването на по-голям брой дози от един еякулат след разреждане, налице е намален обем на семенната плазма и понижени концентрациите на компонентите й в спермалната плазма регулиращи придвижването на гаметите в процеса на оплождане. При естественото съешаване на свинете компонентите на семенната плазма и желеобразната фракция, отделящи се от допълнителните полови жлези на нереза, имат механична функция блокираща обратното изтичане на сперма. При изкуственото осеменяване, поради разреждането на еякулата, тези компоненти липсват в дозата и е налице изтичане на сперма след осеменяване. В този случай, по време на впръскване на семенната течност и с цел стимулиране контракциите, улесняващи придвижването на гаметите в половите пътища е необходимо да се спазват определени условия - темпериране на дозите сперма непосредствено преди осеменяване, натиск в лумбалната област и/или присъствието на половозрял нерез стимулиращ отделянето на окситоцин, лек натиск на флакона/тюбетата със дозата сперма позволяващ семенната течност да се абсорбира чрез естествените контракции на матката и др.

Стратегията за повишаване на процента опрасени свине и броя на родените прасета в прасило след изкуствено осеменяване е

насочена към стимулирация на матката и яйцепроводите чрез добавка на различни компоненти в разредената семенна течност или директното им впръскване в женската полова система преди или по време на самото осеменяване. Такива компоненти са окситоцина и неговите аналози, простагландините, естрогенните хормони, синтетичната спермална плазма (PREDIL®-MR-A®, PRESUS®) и др. С прилагането на тези биологично активни вещества се компенсират някои пропуски в технологията на осеменяване (неточно определен момент за осеменяване, осеменяване със сперма с ниски качествени показатели, неправилна техника на осеменяване и др.), и резултат от приложението им се повишават репродуктивните показатели (Levis, Burrough and Williams, 2002). Окситоцинът и неговите аналози, простагландините и естрогените стимулират транспорта на сперматозоидите в женската полова система, увеличавайки маточните контракции (Challis and Lye, 1986). Според проучвания на Kozumplik and Martinek, 1986; Semenov, 1987; Semenov, 1988, Krajnak, 1988, Odenhal, Barth and Jost, 1990 окситоцинът и неговите аналози стимулират подвижността на сперматозоидите. Репродуктивният им ефект се изразява в увеличаване на заплодяемостта и броя на родените прасета в прасило (Niwa et al., 1982; Krajnak, 1988; Odenhal Barth and Jost, 1990; Paig, Genis and Crespo, 1992). През топлите месеци на годината при прилагането на постцервикално осеменяване с доза 40 мл съдържаща $1,5x10^9$ бр. сперматозоиди с добавка на 4 IU окситоцин, Romo-Valdez et al., 2017 не установяват достоверен ефект върху процента опрасени свине, такъв е отчетен само по отношение размера на прасилото.

Естрогенните хормони, като добавка към спермата, също стимулират контракциите на маточната мускулатура и ускоряват проявата на предовулаторен пик на лутеонизиращия хормон (Claus, 1990), и се повишават заплодяемостта и броят на прасетата в прасило (Claus, 1990; Kirkwood and Thacker, 1991).

На базата на биохимичния състав на естествената спермална плазма от нерез (натрий – 125 µM, калий – 26 µM, калций – 2,2 µM, магнезий – 5 µM, хлориди – 100 µM, фосфати – 0,4 µM) и добавката на високи концентрации антибиотици (200 mg гентамицин и 200 mg линкоспектин) Martin Rilo et al., 1996 разработват синтетична спермална плазма (търговско наименование PREDIL®-MR-A®). Чрез експерименти с предварително впръскване на 30 мл синтетична плазма PREDIL®-MR-A® преди осеменяване Le Coz, 1996; Martin Rilo et al., 1996 установяват повишаване на заплодяемостта както при свинете-майки, така и при младите ремонтни животни. По отношение на показателя общородени прасета в прасило получените резултати са противоречиви. Други техни проучвания (Martin Rilo et al., 1996) показват, че ефектът от прилагането на синтетичната плазма при осеменяване на ремонтните свине е по-голям. Според Rekiel and Sujka, 2007 след прилагане на PREDIL®-MR-A® заплодяемостта е достоверно по-висока при свинете-майки в сравнение с тази при ремонтните животни. Castaneda Morreno, 2002 при прилагане на синтетична плазма PRESUS® при ремонтни животни и свине-майки не установява достоверни разлики по отношение на заплодяемостта и броя прасета в прасило. Ефектът от прилагането на синтетична плазма от една страна

може да се разглежда като действие, стимулиращо метаболизма и подвижността на сперматозоидите в женската полова система, а от друга влияе усилващо на маточните контракции, релаксацията на маточно-тубарния отвор, ускоряването на овулациите, хиперемията на ендометриума и активиране на антимикробна активност. Допълнителното приложение на синтетична плазма до известна степен влияе върху имуносупресната активност на свинете, повишавайки протекцията на сперматозоидите и ембрионите в ранните стадии на имплантацията.

Martin Rilo et al., 1996; Garcia Ruvalcaba et al., 1997 с експерименти за стимулиране на половата система при ремонтни свине преди заплождане, чрез предварително третиране с 100 мл. синтетична плазма PREDIL®-MR-A®на втория проявен еструс, неговото пропускане и осеменяване на следващия трети еструс, достигат по-висока заплодяемост, процент опрасени свине и брой общородени прасета/прасило в сравнение с контролната група. Приложението на синтетична плазма по време на предшестващия еструс има сенсибилизиращ ефект върху матката, изразяващ се в първични стимули за хиперемия и динамични промени в ендометриума и подготовката за имплантация на оплодените зиготи.

При проведени експерименти за двуфазово трансцервикално осеменяване на ремонтни животни и свине-майки с предварително впръскване на 30 мл. PREDIL®- MR-A®, последвано от осеменяване с доза 1,5x10^9 бр. сперматозоиди, са получени по-високи репродуктивни показатели в сравнение с контролната група животни (Garcia Ruvalcaba

and Pham Duy, 2008; Garcia Ruvalcaba et al., 2009). Аплицирането на синтетична плазма, предшестващо впръскването на дозата семенна течност, повишава процента заплодяемост вследствие на повишената концентрация на сперматозоидите в маточнотубарния остиум, постигната от една страна от дилатиращия ефект на синтетичната плазма върху маточната шийка и стимулиране на маточните контракции, а от друга посредством стимулиращия ефект на синтетичната плазма върху мотилитета и транспорта на сперматозоидите в матката.

Ostanello, Cherpelli and Bertacchini, 2000 експериментират с прилагането на синтетична плазма PREDIL®-MR-A® във ферма със синдрома „лятно безплодие”. По отношение на заплодяемостта не е установена достоверна разлика, докато при показателя общородени прасета ефектът от прилагането на синтетична плазма зависи от генотипа на животните. Достоверна разлика е отчетена при чистопородните свине-майки, а при хибридните женски разплодни животни ефектът е недостоверен.

Всеобщо е мнението, че компонентите на синтетичната спермална плазма достоверно повишават репродуктивните показатели – заплодяемост и брой живородени прасета в прасило (García Ruvalcaba et al., 1997; Reicks et al., 1999; Srisuwan, 2001; Ramirez Ovalle, 2002).

Комбиниран метод за постцервикално осеменяване с контрол на овулацията

Изкуственото осеменяване на свине във фиксирано време е репродуктивна технология, при която се индуцира овулация, позволяваща аплициране на спермата в оптималния момент за достигане на висок процент заплодяемост. При този подход се прилага хормонално третиране в точно определен период в зависимост от категорията животни. При родилите свине-майки овулация може да се предизвика след отбиване (De Rensis and Kirkwood, 2016), докато при младите ремонтни животни, след достигане на пубертета при използване на прогестагени (напр. *Altrenogest*) за стимулация и синхронизацията на еструса с последващо хормонално третиране с цел предизвикване на овулация (Martinat-Botte et al., 2010). Поради по-сложната хормонална обработка на ремонтните животни на сегашния етап прилагането на този метод за заплождане е само при свинете-майки след отбиване. Основните схеми за хормонално третиране предизвикващи овулация, включват прилагане на синтетични аналози на гонадотропин релизинг хормоните (*Buserilin* или *Triptorelin*). При хормонална обработка с *Buserilin* на свинете-майки, те се инжектират на 86$^{-я}$ час след отбиването и се прилага еднократно осеменяване след 30 – 33 часа (Baroncello et al., 2017). В случаите на третиране с *Triptorelin*, препаратът се прилага на 96$^{-я}$ час след отбиването, като животните се осеменяват след 22 – 24 часа без да се отчита рефлексът на неподвижност – т. нар. „сляпо” осеменяване (Knox et al., 2017).

Теоретично, с прилагането на този биотехнологичен подход, може да се намали броят на осеменяванията и сперматозоидите,

необходими за заплождане на една свиня. При проведени екперименти по хормонална обработка с *Buserilin* е установено, че 86 – 91% от отбитите свине са подходящи за еднократно осеменяване (Baroncello et al., 2017).

Основен проблем при прилагане на комбинирания метод за индуциране на овулация с последващо еднократно постцервикално осеменяване е достигането на висок процент заплодяемост поради използването на намален брой сперматозоиди в дозата за осеменяване. В редица проучвания (Fontana et al., 2014; Ulguim et al., 2018) е установено, че не се наблюдават съществени достоверни разлики по отношение на процента опрасени животни и размера на прасилото в сравнение със свинете с прилагано дву-/трикратно осеменяване по време на еструса. За разлика от тях Baroncello et al., 2017 установяват понижение на репродуктивните показатели след прилагане на хормонална индукция на овулацията в комбинация с постцервикално осеменяване. Авторите считат, че най-вероятно е необходима корекция в хормоналната обработка на животните, а не в процедурата по постцервикално осеменяване. При сравнително проучване на две дози за постцервикално осеменяване, съдържащи съответно 1.5 и 2.5 млрд. сперматозоиди приложени след хормонална индукция на овулацията, Knox et al., 2017 констатират, че намаленият брой сперматозоиди има негативен ефект върху заплодяемостта и процента опрасени свине. Належащо е провеждането на допълнителни проучвания за установяване необходимия минимален брой сперматозоиди, използвани при постцервикално осеменяване

след хормонална индукция на овулацията, както за ефекта от времето на съхранение на разредената сперма.

Квалификация на персонала

Според Watson and Behan, 2002 приложението на трансцервикалната техника е лесен, бърз и икономичен метод за заплождане на свинете. Редица автори смятат, че върху крайните репродуктивни резултати оказва влияние квалификацията на персонала, провеждащ манипулациите (Helmka, Dewey and Young, 2004; Rozeboom, Reicks and Wilson, 2004; Roberts and Bilkei, 2005; de Alba Romero, 2013; Ausejo el. al., 2017). Те считат, че прилагането на тази техника във фермите трябва да се предхожда от адекватен период на обучение и мотивация на специалистите. При неправилно въвеждане на катетъра за постцервикално осеменяване в половите пътища има вероятност от наранявания на гениталния тракт при женските животни. Ausejo el. al., 2017 установяват наличие на подобни проблеми при 2,5% от осеменените животни на второ опрасване. Flowers, 1996 посочва, че един оператор трябва да извършва не повече от 13 бр. осеменявания за 2 часа. Според него бързите манипулации по осеменяването водят до понижаване на заплодяемостта с около 33%, в сравнение с тези, които траят 10 – 15 минути. Той твърди, че оптималното време за провеждане на манипулациите по трансцервикалния метод е около 3 минути, така се намаляват трудовите разходи във фермата, а спестеното време може да се

оползотвори, напр. в отделяне на повече внимание при откриване на еструса на животните, стимулиране на свинете и т.н.

С цел правилно обучение относно провеждане на манипулациите по постцервикалната техника за впръскване на дозата сперма, първоначално се препоръчва операторите докато придобият необходимите технически умения да я прилагат на многораждали животни, и едва след това да пристъпват към осеменяване на млади ремонтни свине.

НОРМИ НА РЕПРОДУКТИВНИТЕ ПАРАМЕТРИ ПРИ СВИНЕ

При анализ на резултатите от провеждане на изкуствено осеменяване при свине, се отчитат следните основни репродуктивни показатели (табл. 11):

1. процент животни, които не проявяват еструс на 21-я ден след осеменяване;
2. процент бременни свине (общ брой бременни животни от общо осеменени животни);
3. процент опрасени свине (общ брой родили животни от общо осеменени свине);
4. многоплодие (размер на прасилото, отчетено като брой общородени прасета и/или живородени прасета).

Таблица 11. Норми на репродуктивни параметри при свине (данни на *Pig Spain Database*).

Репродуктивни параметри	норма	критични стойности
Възраст на първо заплождане, дни	230 – 245 дни	над 250 дни
Интервал отбиване-заплождане, дни	до 7 дни	над 10 дни
Нормален междуестрален период (21±3 дни), %	10%	20%
Непродуктивни дни	до 50 дни	над 55 дни
Повторки на 21-я ден след осеменяване, %	до 10%	над 15%
Опрасване, %	над 85%	под 82%
Аборти, %	до 2,0%	над 2%
Трудни раждания, %	до 1%	над 1%
Годишен ремонт на стадото, %	40-50%	над 50%
Общородени прасета/прасило, бр.	13,50 – 15 бр.	под 12,00 бр.
Живородени прасета/прасило (основни-майки), бр.	12,50–14,00 бр.	под 12,50 бр.
Живородени прасета/прасило (ремонтни свине), бр.	12,50–14,00 бр	под 12,50 бр.
Мъртвородени прасета/прасило, %	до 9%	над 12%
Мумифицирани прасета, %	до 1,5%	над 3%
Индекс на малкото прасило*, %	до 12%	над 12%
Отбити прасета/прасило, бр.	над 13 бр.	под 10,50 бр.
Смъртност преди отбиване, %	до 12%	над 15%
Живо тегло при отбиване, кг.	6 кг.	
Опрасвания/свиня/за година, бр.	над 2,30 бр.	под 2,20 бр.
Прасета/свиня/за година, бр.	над 25 бр.	под 22 бр.

***** Индекс на малкото прасило – процент на прасилата с 8 или до 8 прасета (мъртви или живи)

Независимо че репродуктивните технологиите в свиневъдството (в частност приложението на постцервикалния метод за изкуствено осеменяване във фермите) се развиват и подобряват с всеки изминал ден, все още има редица нерешени въпроси както от практическа гледна точка, така и в теоретичен аспект.

Необходимо е усилията да се съсредоточат към разработване на нови сперморазредители с подобрен състав, позволяващи дългосрочно съхранение (за период 7 – 10 дни) на разредената семенна течност при температура +15 - 20º С. Успоредно с това трябва да се проведат допълнителни проучвания относно температурните режими за съхранение на дозите семенна течност, съдържащи намален брой сперматозоиди. Всичко това, заедно с използването на постцервикалната техника за впръскване на спермата в женската полова система, ще създаде предпоставка за по-ефективното използване на генетично ценните разплодници. Развитието на нови *in vitro* методи за прогнозиране на оплодителната способност на семенната течност е друг важен въпрос, с чието решение ще се даде възможност за използване на най-добрите нерези. Масовото прилагане на трансцервикалния метод при заплождане на свинете ще зависи от подобряването на редица практики – оптимизиране съотношението между обема на дозата за осеменяване и съдържащите се в нея сперматозоиди, кратност и време на осеменяване при животни със скъсен/удължен интервал отбиване – проява на първи еструс (до 3 – 4 дни/над 8 дни), присъствие на половозрял нерез-пробник по време на провеждане на

осеменяването, разработване на специфичен иструментариум за впръскване на сперма в половите пътища, съобразен с анатомичните особености на половата система при отделните категории свине и т.н.

Във връзка с приложението на новите методи за изкуствено осеменяване в свиневъдната практиката са необходими допълнителни знания относно репродуктивната физиология на животните. Познаването на точния механизъм за достигане на сперматозоидите до яйцепровода, техния отбор в половата система, специфичните особености и характеристики на тези, които оплождат яйцеклетките, ще предостави на свиневъдната индустрия нови възможности за повишаване на ефективността в производството.

МЕТОДИЧЕСКИ УКАЗАНИЯ
ПРИ ПРОВЕЖДАНЕ НА ПОСТЦЕРВИКАЛНО ОСЕМЕНАВАНЕ НА СВИНЕ

С цел ефикасно приложение на постцервикалната техника за изкуствено осеменяване на свине и получаване на високи репродуктивни показатели (заплодяемост, процент опрасени животни и размер на прасилото) е необходимо да се спазват следните важни правила:

1. Откриване на еструса с половоактивен нерез-пробник, като по време на процедурата не трябва да има други външни стимули/дразнители. За по-лесно въвеждане на постцервикалната канюла и намаляване контракциите на маточната шийка, е необходимо след контакта между женското животно и разплодника да се изчака от 45 минути до 1 час.
2. Избор на метод за осеменяване:

Постцервикален метод – свине след първо опрасване, проявили естрални признаци между 4$^{-ти}$ – 7$^{-ми}$ (3$^{-ти}$ — 6$^{-ти}$) ден след отбиване в зависимост от фермата. Това обикновено са 70 – 75% от животните в стадото.

Цервикален метод – всички други категории свине:

- животни с проява на на еструс над 6 – 7 дни след отбиване.
- свине с проява на еструс до 3 – 4 дни след отбиване.
- ремонтни животни запложданн за първи път (достигнали над 140 кг жива маса и 240 дн. възраст) и регистрирани два пълноценни еструса.
- повторки, абортирали свине, „проблемни” животни.

3. Кратността и интервала на осеменяване е аналогична както при цервикалния способ.

4. С цел отпускане на маточната шийка и по-лесно въвеждане на постцервикалната канюла в нея, важно условие при провеждане на постцервикалната техника за осеменяване е да не се стимулира женското животно по време на манипулацията (без присъствие на нерез-пробник, без дразнения от натиск предизвикани от обслужващия персонал и др.).

5. Правилен избор на модел катетър за провеждане на осеменяване. Препоръчва се използването на инструменти предоставени в индивидуални стерилни опаковки.

6. Спазването на висока хигиена по време на манипулациите по осеменяване (щателно почистване на външните полови органи) за предотвратяване попадането на екзогенни частици и микроорганизми в половите органи. Най-добър вариант е използването на еднократни кърпички, импрегнирани с неспермициден гинекологичен дезинфектант.

7. Поставяне на неспермициден гел върху върха на катетъра (около 2 мл).

8. Вкарване на стандартния катетър през външните полови пътища до фиксирането на върха му в шийката на матката.

9. Поставяне на вътрешната постцервикална канюла в стандартния катетър, до установяване на първото съпротивление на маточните гънки. След няколко секунди изчакване, свинете се отпускат и започва въвеждането на канюлата през цервикалния канал.

10. Въвеждането на канюлата се извършва с леки постъпателни движения, за да се преодолее съпротивлението на цервикалните гънки и да се достигане до маточното тяло (установява се, че съпротивлението на маточните гънки е изчезнало и има тактилно усещане за допир с „гъбесто образование", представляващо стените на тялото на матката). Ако по време на вкарване на постцервикалната канюла катетъра в половите органи се забележи известно затруднение, важно условие е да не се прилага усилие за преодоляване на цервикалния канал, защото може да се нарани маточната лигавица и да се отдели кръв. Това се установява едва след изваждането на постцервикалната канюла. В някои случаи при животни с този проблем се получават добри репродуктивните показатели. Ако оператора не успее да вкара постцервикалната сонда до 15 минути, се препоръчва да се премине към осеменяване по стандартния цервикален метод.

11. Препоръчва се прилагането на т. нар. схема *„5-1"* – първоначално на пет животни се поставя стандартния катетър (който

служи като „водач“), за да се достигне отпускане на маточната шийка и след това оператора се връща при първото животно и започва въвеждането на постцервикалната канюла.

12. Дозата за изкуствено осеменяване трябва да е с температура 15 – 17° С и да съдържа над 1,0-2,0x10^9 бр. сперматозоиди, с праволинейно постъпателни движения. Необходимо е да се извършва прецизна преценка на качествените показатели на получените еякулати, точен избор на подходящия сперморазредител, правилно разреждане, обработка и съхранение на разредената сперма, точно установяване на оптималния момент за осеменяване и прецизно провеждане на манипулациите по впръскване на семенната течност в половата система.

13. Обемът на дозата за изкуствено осеменяване трябва да е 50 – 60 мл, за да се осигури адекватното предвижване на сперматозоидите в маточните рога. Дозата трябва да аплицира много бързо, така че да се гарантира нейното равномерно разпределение в маточните рога. По време на впръскването й не трябва да се наблюдава обратно изтичане на семенна течност от половите пътища (въпреки че това е естествен процес в първите минути след аплициране на спермата). Обратното изтичане на сперма от вулвата или катетъра/постцервикалната канюла може да е показател че шийката на матката не е напълно отпусната, и е необходимо да се изчакат няколко минути, за да се повтори манипулацията. Друга възможна причина е извършеното твърде рано/късно (в началото/края на еструса) осеменяване, при непълно отворена шийката на матката.

14. След впръскване на дозата семенна течност в половата система вътрешната постцервикалната канюла трябва веднага да се извади, за да се предотврати навлизането на микророганизми през нея. След отстраняване се препоръчва да се провери дали формата й съответства на анатомичната форма на канала в маточната шийка (показател, че осеменяването е извършено правилно), наличието на кръв, гной и др. Стандартният катетър, служещ за „водач" на постцервикалната канюла се изважда от половите пътища след 5 – 10 минути.

15. За стимулация контракциите на маточните рога улесняващи транспорта на аплицираната доза семенна течност, непосредствено след осеменяване се препоръчва да се пуснат няколко нерези-пробници между индивидуалните фиксатори с осеменените животни.

Получаването на високи репродуктивни показатели, е резултат от спазване на следните по-важни елементи:

- Преди масовото въвеждане на тази техника за заплождане във фермите е необходимо да бъде проведена мотивация, адекватно теоретично и практическо обучение с персонала, който ще я прилага.
- Да се използват малки дози за осеменяване с установен обем и брой сперматозоиди, предварително подготвени в лаборатория.
- Да не се разпределят големи дози сперма между няколко животни! В този случай не може да се установи точно обемът и броят сперматозоиди, приложени за осеменяване на всяко отделно животно.
- Поради използването на намален брой сперматозоиди в дозите за вътрематочно осеменяване са необходими не само генетично

ценни разплодници, но и такива с високи качествени показатели на семенната течност – нисък процент патологични форми, липса на аглутинация, добра подвижност и преживяемост на сперматозоидите, висок процент гамети с нормални акрозоми (над 80%) и др.

- При резултати получени от практиката, не са установени разлики между използването на различни модели катетри със спираловиден или топковиден/елипсовиден връх, или пък модели постцервикална канюла (с един фронтален или два странични отвора на върха). На сегашния етап някои фирми предлагат постцервикални сонди с три отвора на върха (два странични и един фронтален), улесняващи впръскването на сперма в маточното тяло. Предимствата на този тип постцервикални сонди са:

- По-ниско налягане върху флакона със сперма при впръскване на дозата.

- Предотвратяване блокирането на потока сперма поради запушване на един от изходните отвори (ако фронталният отвор е блокиран, двата странични отвора се освобождават).

- Дозата сперма се впръсква по-лесно и се разпределя равномерно в цялата матка, тялото и началото на двата рога.

- Намалява броят на смяна или преместване на канюлата за освобождаване на запушените изходящи отвори.

Тъй като на сегашния етап във фермите се използват двата метода за осеменяване – цервикален начин и постцервикален способ, като първия се провежда в присъствие на половозрял нерез-пробник, а

другият се изпълнява без присъствието на разплодник, възможна е следната организация на работа:

протокол I	**протокол II**
1. Определяне на еструса **С** нерез пробник 2. **Цервикално осеменяване** на ремонтните свине **В** присъствие на нерез-пробник 3. Отстраняване на нереза-пробник **Изчакване** **40 - 50 минути** ↓ 4. **Постцервикално осеменяване** **БЕЗ** присъствие на нерез-пробник на многораждали свине 5. Стимулиране на осеменените животни с нерез-пробник	1. Определяне на еструса **С** нерез пробник 2. Отстраняване на нереза-пробник **Изчаквяне** **40 - 50 минути** ↓ 3. **Постцервикално осеменяване** **БЕЗ** присъствие на нерез-пробник на многораждали свине 4. Стимулиране на осеменените животни с нерез-пробник 5. **Цервикално осеменяване** на ремонтните свине **В** присъствието на нерез-пробник
второ/трето осеменяване се извършва след интервал 12-12/12-24/24-24 часа в зависимост от възприетата схема във фермата **Забл.:** Ремонтните свине **задължително** се осеменяват по цервикалния способ.	

И двата протокола са индентични и ефективни при правилното им провеждане, като се налага нереза-пробник двукратно

да се отстранява/предоставя от свинете. Протокол II е по-препоръчителен, тъй като дава възможност свинете при които не е могло да се проведе постцервикалния метод, да бъдат осеменени с групата животни при които се прилага цервикално осеменяване.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Димитров, С., Атанасова, Т., Бонев, Г., Славов, С., 2006. Икономически аспекти на интраутеринния и постцервикален метод за изкуствено осеменяване на свине. Животновъдни науки, 2: 55–57.

2. Димитров, С., Кацаров, В., 2008. Икономическа ефективност при прилагане на различни методи за изкуствено осеменяване на свине. Животновъдни науки, 5: 5-9.

3. Димитров, С., Атанасов, В., 2011. Постцервикален метод за изкуствено осеменяване на свине в комбинация със синтетична плазма Predil MR-A®. Животновъдни науки, 6: 34-47.

4. Иванов, И.И., 2007. Искусственное оплодотворение млекопитающих. СПБ, Типографии, Академии наук.

5. Кьонинг, И., Загорски, Д. и кол., 1982. Технология на размножаването в промишленото свиневъдство. Земиздат, София.

6. Милованов, В.К., 1962. Биология воспроизведения и искусственное осеменение сельскохозаяйственных животных. Сельхозиздат, Москва.

7. Полянцев, Н.И., Подберезный, В.В., 1990. Усовершенствованный прибор для искусственного осеменения свиней. Зоотехния, 4: 63-65.

8. Aherne, F.X., Kirkwood, R.N., 1985. Nutrition and sow prolificacy. Journal of Reproduction and Fertility, suppl. 33: 169-183.

9. Almond, P.K., Bilkei, G., 2005. Seasonal infertility in large pig production units in an Eastern-European climate. Australian Veterinary Journal, 83, 6: 344-346.

10. Althouse, G.C., Lu, K.G., 2005. Bacteriospermia in extended porcine semen. Theriogenology, 63, 2: 573-584.

11. Apic, J., Vakanjac, S., Stancic, I., Radovic, I., Jotanovic, S., Kanacki, Z., Stankovic, B., 2015. Sow fertility after insemination with varying doses of volume and spermatozoa count. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 39: 709-713.

12. Araujo, E.B., Costa, E.P., Costa, A.H.A., Lopes, F.G., Macedo, G.G., Paula, T.A.R., 2009. Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination. Brazilian Journal of Animal Science, 38, 8: 1460–1467.

13. Ausejo, R., Usejo, N., Mendoza, Y., Dahmani, O., Mitjana, J.L., Úbeda, J.L., Falceto, M.V., 2017. Effect of incidents associated to post-cervical artificial insemination on reproductive performance of sows. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 21, 2: 198–205.

14. Bahat, A., Tur-Kaspa, I., Gakamsky, A., Giojalas, L.C., Breitbart, H., Eisenbach, M., 2003. Thermotaxis of mammalian sperm cells: a potential navigation mechanism in the female genital tract. Nat. Med., 9: 149-150.

15. Bahat, A., Eisenbach, M., 2010. Human sperm thermotaxis is mediated by phospholipasec and inositol trisphosphate receptor Ca^{2+} channel. Biol. Reprod., 82: 606–616.

16. Baker, R.D., Dziuk, P.J., Norton, H.W., 1968. Effect of volume of semen, number of sperm and drugs on transport of sperm in artificially inseminated gilts. J. Anim. Sci., 27: 88-93.

17. Baroncello, E., Bernardi, M.L., Kummer, A.D., Wentz, I., Bortolozzo, F.P., 2017. Fixed-time post-cervical artificial insemination in weaned sows

following buserelin use combined with/without eCG. Reprod. Domest. Anim., 52: 76-82. https://doi.org/10.1111/rda.12805

18. Bathgate, R., Eriksson, B.M., Thomson, P.C., Maxwel, l.W.M.C., Evans, G., 2008. Field fertility of frozen–thawed boar sperm at low doses using non-surgical, deep uterine insemination. Anim. Reprod. Sci., 103: 323–335.

19. Belstra, B., 2002. Review: intrauterine /transcervical/ and fixed-time artificial insemination in swine. Annual swine report, N.C. State University. http://mark.asci.ncsu.edu/SwineReports/2002/belstra3.htm.

20. Bennemann, P.E., Milbradt, E., Diehl, G.N., Weber, D., Schimidt, A.C.T., Bernardi, M.L., Bille, N., Nielsen, N.C., Larsen, J.L., Svendsen, J., 1974. Pre-weaning mortality in pigs. 2. The perinatal period. Nord. Vet. Med., 26: 294–313.

21. Bille, N., Nielsen, N.C., Larsen, J.L., Svendsen, J., 1974. Pre-weaning mortality in pigs. 2. The perinatal period. Nord. Vet. Med., 26: 294–313.

22. Bolarin, A., 2018. Economic impact of post-cervical insemination on a farm. http://www.pig333.com

23. Borchardt Netto, G., 1998. Causes of Variation of Oestrus Lenght and Onset of Oestrus-Ovulation Interval and their Relationship with Pregnancy Rate and Litter Size in Multiparous Sows. PhD Dissertation, Institute for Reproduction, Hanover.

24. Bortolozzo, F.P., Bernard, M.L., Kummer, R., Wentz, I., 2009. Growth, body state and breeding performance in gilts and primiparous sows. Soc. Reprod. Fertil., suppl., 66: 281-291.

25. Brüssow, K.P., Rátky, J., Rodríguez-Martínez, H., 2008. Fertilization and early embryonic development in the porcine fallopian tube. Reprod. Domest. Anim., 43: 245-251.

26. Caballero, I., Vazquez, M.J., García, M.E., Parrilla, I., Roca, J., Calvete, J.J., Sanz, L., Martínez, A.E., 2008. Major proteins of boar seminal plasma as a tool for biotechnological preservation of spermatozoa. Theriogenology, 70: 1352–1355.

27. Carabin, H., Martineau, G.P., Vaillancourt, D., Higgins, R., Bigras-Poulin, M., 1996. Detection of cervical bacterial contamination in swine by two methods of swabbing in relation to artificial insemination. Canadian Journal of Veterinary Research, 6: 40–44.

28. Casas, I., Sancho, S., Briz, M., Pinart, E., Bussalleu, E., Yeste, M., Bonet, S., 2010. Fertility after post-cervical artificial insemination with cryopreserved sperm from boar ejaculates of good and poor freezability. Anim. Reprod. Sci., 118: 69-76.

29. Castaneda Moreno, J., 2002. Effect of sexual stimulus applied during artificial insemination on reproductive performance in pigs. Thesis, Universidad de Colima.

30. Cavalcante-Neto, A., Lui, J.F., Sarmento, J.L.R., Ribeiro, M.N., Costa-Monteiro, J.M. and Tonhati H., 2008. Fatores ambientais e estimativa de herdabilidade para o intervalo desmamecio de fêmeas suínas. Revista Brasileira de Zootecni, 37, 11: 1953-1958.

31. Challis, J.R.G., Lye, S.J., 1986. Parturition. Oxford Review of Reproductive Biology, 8: 101-105.

32. Chang, H., Suarez, S.S., 2010. Rethinking the relationship between hyperactivation and chemotaxis in mammalian sperm. Biol. Reprod., 83: 507-513.

33. Chantziaras, I., Dewulf, J., Van Limbergen, T., Klinkenberg, M., Palzer, A., Pineiro, C., Aarestrup Moustsen, V., Niemi, J., Kyriazakis, I., Maes, D., 2018. Factors associated with specific health, welfare and reproductive performance indicators in pig herds from five EU countries. Prev. Vet. Med., 1, 159: 106-114.

34. Clark, R.A., Klebanoff, S.J., 1976. Generation of a neutrophil chemotactic agent by spermatozoa: role of complement and regulation by seminal plasma factors. J. Immunol., 117: 1378-1386.

35. Claus, R., 1990. Physiological role of seminal components in the reproductive tract of the female pig. J. Reprod. Fertil., suppl. 40: 117–131.

36. Coy, P., García-Vázquez, F,A., Visconti, P.E., Avilés, M., 2012. Roles of the oviduct in mammalian fertilization. Reproduction, 144: 649-660.

37. Crabo, B.G., Brown, K.I., Graham, E.F., 1972. Effect of some buffer on the storage and freezing of boar spermatozoa. J. Anim. Sci., 35: 377-382.

38. Cuevas, P., Pedroza, C., Jimenez, C., 2005. Evalucion de la técnica de insemination artificial postcervical y su relación con los parámetros reproductivos. Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia (Universidad Nacional de Colombia), 52: 144-155.

39. Da Costa, E.D., Da Costa, A.H.A., Macedo, G.G., Martins, E.C., 2011. Artificial Insemination in Swine. in: Artificial insemination in farm animals, 6: 95–114.

40. Dallanora, D., Mezalira, A., Katzer, L.H., Bernardi, M.L., Bortolozzo, F.P., Wentz, I., 2003. Intrauterine insemination with reduced sperm number on a commercial pig farm. Proceeding of the 5th International Conference on Boar Preservation, Doorwerth, The Netherlands, 50.

41. De Alba Romero, C., 2013. La insemination intrauterine en cerdos: beneficos, and riesgos. Av. Tecnol. Porc., X, 7-8: 16 -24.

42. Diehl, G.N., FilhaII, W.S.A., Kummer, R. Koller, F., Bernardi, M.L., Wentz, I. Bortolozzo, F.P., 2006. Nova pipeta para inseminação intra–uterina em suínos. Cienc. Rural, 36: 179-185.

43. De Rensis, F., Kirkwood, R.N., 2016. Control of estrus and ovulation: Fertility to timed insemination of gilts and sows. Theriogenology, 86: 1460-1466. https:// doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.089.

44. Dimitrov, S., Jeliaskov, E., Levis, D., 2007. Deep intrauterine and transcervical insemination of sows and gilts. Trakia Journal of Science, 5, 1: 40-46.

45. Dimitrov, F., Dimitrov, M. Dimitrov, S., Hernandez-Gil, R. y Ruvalcaba, J.A., 2007. Insemination post-cervical en hembras multiparas con concentration reducida de espermatozoides por dosis: resultados de campo en Bulgaria, Av. Tecnol. Porc., 4, 1: 36-44.

46. Dimitrov, S., Zmudzki, J., 2009. Post-cervical insemination of sows with low sperm concentration dose in the commercial pig farm. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 53: 225-229.

47. Dimitrov, S., Nikolov, S., Kunev, T., 2009. Post-cervical insemination of swine with different sperm concentration, Proceedings of IV Balkan

conference of animal science BALNIMALCON, 14-16 May, Stara Zagora, 70-73.

48. Dimitrov, S., 2012. Postcervical artificial insemination of sows with in combination with of synthetic seminal plasma (Predil MR-A). Savremena Poljprivreda, 61, 3-4: 169-174.

49. Drobnis, E.Z., Overstreed, J.W., 1992. Natural history of mammalian spermatozoa in the female reproduction tract. Oxf. Rev. Reprod. Biol., 14: 1-45.

50. Einarsson, S., Viring, S., 1973. Effect of boar seminal plasma on the porcine uterus and the isthmus part of oviducts in vitro. Acta Vet. Scand., 14: 639-641.

51. Eniarsson, S., 1980. Site, transport and rate of inseminated semen. Int. Congr. Anim. Reprod. AI, Madrid, 1: 147-185.

52. Fantinati, P., Zannoni, A., Bernardini, C., Webster, N., Lavitrano, M., Forni, M., Seren, E., Bacci, M.L., 2005. Laparoscopic insemination technique with low numbers of spermatozoa in superovulated prepuberal gilts for biotechnological application. Theriogenology, 63, 3: 806–17.

53. Feitsma, R., 2009. Artificial insemination in pigs, research and developments in The Netherlands, a review. Acta Scientiae Veterinariae, suppl. 1, 37: s61–s71.

54. Fitzgerald, R.F., Jones, G.F., Stalder, K.J., 2008. Effects of intrauterine and cervical artificial-insemination catheters on farrowing rate and litter size. J. Swine Health Prod., 16, (1): 10–15.

55. Flesch, F.M., Gadella, B.M., 2000. Dynamics of the mammalian

sperm plasma membrane in the process of fertilization. Biochim. Biophys. Acta, 10: 197-235.

56. Flowers, W.L., Alhusen, H.D., 1992. Reproductive performance and estimates of labor requirements associated with combinations of artificial insemination and natural service in swine. J. Anim. Sci., 70: 615-621.

57. Flowers, W.L., 2016. Relationship among daily breeding demand, breeding technician performance and fertility of sows on swine operations using A.I. http://www.ncsu.edu/.htm

58. Fontana, D.L., Ulguim, R.R., Sbardella, P.E., Bernardi, M.L., Wentz, I., Bortolozzo, F.P., 2014. Fixed-time post-cervical artificial insemination in sows receiving porcine luteinising hormone at oestrus onset. Anim. Reprod. Sci., 144: 109-114, https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.12.003.

59. Foote, R.H., 2002. The history of artificial insemination: Selected notes and notables. J. Anim. Sci., 80, suppl: e22-e32.

60. Gaddum-Rosse, P., 1981. Some observations on sperm transport through the uterotubal function. Amer. J. Anat., 160: 333-341.

61. Gadea, J., 2003. Review: Semen extenders used in the artificial insemination of swine. Spanish Journal of Agricultural Research, 1, 2: 17-27.

62. Gadella, B.M., Harrison, R.A., 2000. The capacitating agent bicarbonate induces protein kinase Adependent changes in phospholipid transbilayer behavior in the sperm plasma membrane. Development, 127: 2407–2420.

63. Garcia Ruvalcaba, J.A., Lapuente, S., Laborda, M.R., Martín Rillo, S., 1997. Mejora de resultados de la I.A. por medio del uso del plasma seminal

sintético (Predil MR-A) en cerdas nulíparas. 28th American Association of Swine Practitioners. Annual Meeting, Québec, Canadá, 117- 121.

64. Garcia Ruvalcaba, J.A., Pham, D.P., 2008. Effect of transcervical infusion of synthetic seminal plasma (Predil MR-A®) prior to insemination in sows as a metod to improve reproductive results in Vietnam farms. XIIIth AAAP Congress, Hanoi, Vietnam, 332 (Abs.)

65. Garcia Ruvalcaba J.A., Pallas Alonso, R., Hernandez-Gil, R. and Dimitrov, S., 2009. The use of synthetic seminal plasma (Predil MR-A®) as a method to facilitate procedures with cervical and post-cervical artificial insemination of sows. Agricultural science and technology, 1, 1: 2-7.

66. García Ruvalcaba, J.A., Pallás Alonso, R., Hernández-Gil, R., Dimitrov, S., 2010. Técnica bifásica de IA con plasma seminal sintético (Predil® MR-A®) como método para facilitar los procedimientos de inseminación convencional y post-cervical (I). Anaporc, 7, 65: 42-45.

67. García Ruvalcaba, J.A., Pallás Alonso, R., Hernández-Gil, R., Dimitrov, S., 2010. Técnica bifásica de IA con plasma seminal sintético (Predil® MR-A®) como método para facilitar los procedimientos de inseminación convencional y post-cervical (II). Anaporc, 7, 66: 44-48.

68. García-Vázquez, F.A., Ruiz, S., Grullón, L.A., de Ondiz, A., Gutiérrez-Adán, A., Gadea, J., 2011. Factors affecting porcine sperm mediated gene transfer. Res. Vet. Sci., 91, 3: 446–453.

69. García-Vazquez, F.A., Llamas-Lopez, P.J., Jacome, M.A., Sarrias-Gil, L., Lopez-Albors, O., 2019. Morphological changes in the porcine cervix: A comparison between nulliparous and multiparous sows with regard to post-cervical artificial insemination. Theriogenology, 127: 120-129.

70. García-Vazquez, F.A., Mellagic, A.P.G., Ulguimc, R.R., Hernandez-Caravaca. I., Llamas-Lopeza, P.J., Bortolozzo, F.P., 2019. Post-cervical artificial insemination in porcine: The technique that came to stay. Theriogenology, 129: 37-45.

71. Gil, J.M., Tortades, J. and Alevia, A., 2000. Postcervical insemination. Proceedings of the 16th IPVS Congress, Melborume, Australia, 399.

72. Gil, J.M., 2001. Insemination post-cervical. Proc. Primer Simposio Argentino de Reproduction Porcina, Buenos Aires, Argentina, 33-36.

73. Gil, J.M., Tortades, J. and Alevia, A., 2002. Postcervical insemination use of different volumes and sperm numbers. Proceedings 17th International Pig Veterinary Society Congress, Ames, IA, 229 (abst.)

74. Gil, J.M., Tortades, J. and Alevia, A., 2004. Post-cervical insemination use a small volumes and sperm number. Proceedings of the XVIII International Pig Veterinary Society Congress, 456.

75. Gil, J., Nieto, M., 2006. Post cervical artificial insemination, effect of cervical stimulation after infusion of semen dose. Proceedings 19th IPVS Congress, July 16-19, Copenhagen, Denmark.

76. Goméz-Rincón, C., 2009. Magapor launches the first mixed insemination system for swine. https://www.pig333.com

77. Gonzalez-Peña, D., Knox, R.V., Pettigrew, J., Rodriguez-Zas, S.L., 2014. Impact of pig insemination technique and semen preparation on profitability. Journal of Animal Science, 92, 1: 72–84.

78. Gordon, I., 2004. Reproductive technologies in farm animals. CAB International, Wallingford, UK.

79. Gottardi, L., Brunel, L., Zanelli, L., 1980. New dilution media for artificial insemination in the pig. The 9th International Congress of Animal Reproduction, Madrid, vol. 5: 49-53.

80. Hancock, J., Hovell, G., 1959. The collection of boar semen. Vet. Rec., 71: 664-665.

81. Hancock J.L., Hovell, G.R., 1961. The effect of semen volume and number of spermatozoa on the fertility of intra-uterine insemination of pigs. Anim. Prod., 3: 153-160.

82. Helmka, C.A., Dewey, C., Young, B., 2004. Enhancing artificial insemination in swine. Proc. Am. Assoc. Swine Vet., 6: 59-61.

83. Hernandez-Caravaca, I., Izquiero-Rica, M., Matas Parra, C., Garcia-Vazquez, F., 2009. Rentabilidad en la granja de la inseminacion post cervical. SUIS, 60: 26-33.

84. Hernández-Caravaca, I., Izquierdo-Rico, M.J., Matás, C., Carvajal, J.A., Vieira, L., Abril, D., Soriano-Úbeda, C., García–Vázquez, F.A., 2012. Reproductive performance and backflow study in cervical and post-cervical artificial insemination in sows. Animal Reproduction Science, 136: 14–22.

85. Hernández-Caravaca, I., Izquierdo-Rico, M.J., Soriano-Úbeda, C., García-Vázquez, F.A., 2013. Hydrochloride of vetrobutin (Monzal®) improves the application of post-cervical artificial insemination in gilts. 29th Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association (AETE), Istanbul, Turkey.

86. Hernández-Caravaca, I., Llamas-López, P.J., Izquierdo-Rico, M.J., Soriano-Úbeda, C., Matás, C., Gardón, J.C., García-Vázquez, F.A., 2017. Optimization of post-cervical artificial insemination in gilts: Effect of

cervical relaxation procedures and catheter type. Theriogenology, 1, 90: 147-152.

87. Holt, W.V., 2009. Is semen analysis useful to predict the odds that the sperm will meet the egg? Reprod. Domest. Anim., 3: 31-38.

88. Holt, W., Fazelli, A., 2010. Sperm–oviduct interactions. Mol. Reprod. Dev., 77: 934-943.

89. Horris, D.L., 2001. Production porcina multisite. Ed. Acribia, Zaragoza.

90. Hunter, R.H., L'Eglise, P.C., 1971. Polyspermic fertilization following tubal surgery in pigs with particular reference to the role of the isthmus. J. Reprod. Fertil., 24: 233-246.

91. Hunter, R.H.F., 1973. Transport migration and survival of spermatozoa in the female genital tract: species with intrauterine deposition of semen. in: Hafez, E.S.E., Thubault, C., (eds), Sperm Transport, Survival and Fertilizating Ability. INSRM 26: 309-342.

92. Hunter, R.H.F., 1981. Sperm transport and reservoirs in the pig oviduct in relation to the time of ovulation. J. Reprod. Fertil., 63: 109–115.

93. Hunter, R.H.F., 1982. Interrelationships between spermatozoa, the female reproductive tract and the egg investments. in: Control of Pig Reproduction. Cole, D.J.A. and Foxcroft, G.R., Butterworth, London, 585-601.

94. Hunter, R.H.F., 1984. Pre-ovulatory arrest and pre-ovulatory redistribution of competent spermatozoa in the isthmus on the pig oviduct. J. Reprod. Fertil., 72: 203-211.

95. Hunter, R.H.F., 1988. The Fallopian Tubes. Their Role in Fertility and Infertility. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 53-108.

96. Hunter, R.H.F., 1991. Oviduct function in pigs with particular reference to the pathological condition of polyspermy. Mol. Reprod. Dev., 294: 385-391.

97. Hunter, R.H.F., 2009. Temperature gradients in female reproductive tissues and their potential significance. Anim. Reprod., 6: 7-15.

98. Hunter, R.H.F., 2012. Components of oviduct physiology in eutherian mammals. Biol. Rev., 87: 244-255.

99. Ito, T., Niwa, T., Kudo, A., 1948. Studies on artificial insemination in swine. Zootech. Exp. Sta. Res. Bul., 55: 1–74.

100. Ivanoff, E.I., 1922. On the use of artificial insemination for zootechnical purpose in Russia. J. Agric. Sci., 12: 244-256.

101. Izco, M. L., 2008. Comparison de la insemination clasica frente a la insemination postcervical applicada con differentes dosis. Edipork, 116: 38-43.

102. Johanson, L.A., Aalbers, J.G., Grooten, H.J.G. 1988. Artificial insemination of swine: Fecundity of boar semen stored in Beltsvill TS (BTS), Modified Modena (MM), or MR-A and inseminated on one, three and four days after collection. Reproduction in Domestic Animals, 23:49-55. doi/10.1111/j.1439-0531.1988.tb01080.x

103. Johanson, L.A., Witze, K.F., Fiser, P., Mazwell, W.M.C., 2000. Storage of boar semen. Anim. Reprod. Sci., 62: 143-172.

104. Kaeoket, K., Chanapiwat, P., Wongtawan, T., Kunavongkrit, A., 2010. Successful Intrauterine Insemination (IUI) with Frozen Boar Semen:

Effect of Dose, Volume and Fixed-Time AI on Fertility. Thai Journal of Agricultural Science, 43, 1: 31-37.

105. Kaneko, M., Koketsu, Y., 2012. Gilt development and mating in commercial swine herds with varying reproductive performance. Theriogenology, 15, 77, 5: 840-846.

106. Katila, T., 2012. Post-mating inflammatory responses of the uterus. Reprod. Domest. Anim., 47, suppl. 5: 31-41.

107. Kemp, B., Soede, N.M., 1996. Relationship of weaning-to-estrus interval to timing of ovulation and fertilization in sows. Journal of Animal Science, 74: 944-949.

108. Killian, G.J., 2004. Evidence for the role of oviduct secretions in sperm function, fertilization and embryo development. Anim. Reprod. Sci., 82-83: 141-153.

109. Kirkwood, R.N., Thacker, P.A., 1991. The influence of adding estradiol to semen on reproductive performance of sows. Canadian Journal of Animal Science, 71: 589-591.

110. Kirkwood, R.N., 2009. Managing seasonal infertility in sows. Vets. Web., 11: 1-12.

111. Knox, R.V., 2004. Practicalities and pitfalls of semen evaluation. in: Advances in Pork Production, 15: 315-322.

112. Knox, R.V., Esparza-Harris, K.C., Johnston, M.E., Webel, S.K., 2017. Effect of numbers of sperm and timing of a single, post-cervical insemination on the fertility of weaned sows treated with OvuGel®. Theriogenology,92:197-203, https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017

113. Kommisrud, E., Paulenz, H., Sehested, E., Grevle, I.S., 2002. Influence of boar and semen parameters on motility and acrosome integrity in liquid boar semen stored for five days. Acta Vet. Scand., 43: 49–55.

114. Kozumplíck, J., Martinek, J., 1986. The effect of Oestrophan Spofa (synthetic analog of prostaglandin F 2alpha) added to the insemination dose on pregnancy and fertility in sows. Vet. Med. (Praha), 31, 4: 227-232.

115. Kraeling, R.R., Webel, S.L., 2015. Current strategies for reproductive management of gilts and sows in North America. J. Anim. Sci. Biotechnol., 6, 1:3.

116. Krajnak, P., 1988. The effect of oxytocin added to insemination doses on fertility of pigs. Pig News and Information, 11, 388 (abs).

117. Krueger, C., Rath, D., Johnson, L.A., 1999. Low dose insemination in synchronized gilts. Theriogenology, 52, (8): 1363–1373.

118. Langendijk, P., Bouwman, E.G., Kidson, A., Kirkwood, R.N., Soede, N.M., Kemp, B., 2002. Roles of myometrial activity in sperm transport through the genital tract and fertilisation in sows. Reproduction, 123: 683-690.

119. Langendijk, P., Soede, N.M., Kemp, B., 2005. Uterine activity, sperm transport, and the role of boar stimuli around insemination in sows. Theriogenology, 63: 500-513.

120. Le Coz, P., 1996. L'insemination multiphase, Porc Magazine, 286: 49-51.

121. Leite, C.D.S., Lui, J.F., Albuquerque, L.G. and Alves, D.N.M., 2011. Environmental and genetic factors affecting the weaning-estrus interval in sows. Genet. Mol. Res., 10, 4: 2692-2701.

122. Levis, D.G., Burroughs, S., Williams, S., 2002. Use of intra-uterine insemination of pigs. Pros., Con. & Economics. Proc. Reproductive Pharmacology and Technology, Seminar №1, Amer. Assoc. of Swine Vet., Kansas City, MO, 39-62.

123. Levis, D., 2004. Intrauterine Body and Deep Intrauterine Horn Insemination. Midwest boar stad manager conference, August 4-5th, St. Louis, Missouri.

124. Leyun Izco, M., 2008. Experimentacion: Estudio comparative de diferentes sisteman de application de semen porcino. Navarra agrarian, 144: 41-48.

125. Llamas-López, P.J., López-Úbeda, R., López, G., Antinoja, E., García-Vázquez, F.A., 2019. A new device for deep cervical artificial insemination in gilts reduces the number of sperm per dose without impairing final reproductive performance. Journal of Animal Science and Biotechnology, 10:11

126. Llanes Chalé, J.E., Alzina López, A., Segura Correa, J.C., Álvarez Fleites, M.J. y Góngora Castro, G., 2007. Porcentaje de gestación y prolificidad de cerdas en el trópico utilizando las técnicas de inseminación artificial convencional e intrauterine. Livestock Research for Rural Development, 19 (10).

127. Luongo, C., Garrappa, G., Llamas-López, P.J., Rodríguez-Tobón, E., López-Úbeda, R., Abril-Sánchez, S., García-Vázquez, F.A., 2020. Effect of

boar seminal dose type (cervical compared with post-cervical insemination) on cooling curve, sperm quality and storage time. Animal Reproduction Science, 212, https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106236

128. Maes, D., López-Rodríguez, A., Rijsselaere, T., Vyt, P., Van Soom, A., 2011. Chapter 5: Artificial Insemination in Pigs, in: Artificial Insemination in Farm Animals, ed. Milad Manafi, Rijeka, Croatia, In-Tech., 79–94.

129. Martin Rilo, S., 1984. How AI is progressing in Spain. Pig Intern., May, 24-28.

130. Martin Rillo, S., Lapuente, S., Hernandez-Gil, R., Carcia Ruvalcaba, J.A. and Garcia Artiga, C. 1996. Improvement of fertility results by means of usage of synthetic seminal plasma before artificial insemination. Proceedings 14th International Pig Veterinary Society Congress. Bologna, Italy, 605 (abs).

131. Martinat-Botte, F., Venturi, E., Guillouet, P., Driancourt, M.A., Terqui, M., 2010. Induction and synchronization of ovulations of nulliparous and multiparous sows with an injection of gonadotropin-releasing hormone agonist (Receptal). Theriogenology, 73:332-342. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.09.017

132. Martínez, E., Vázquez, J., Roca, J., Lucas, X., Gil, M., Parrill, I., Vázquez, J., Day, B., 2001. Successful nonsurgical deep intrauterine insemination with small numbers of spermatozoa in sows. Reproduction, 122: 289–296.

133. Matthijs, A., Engel, B. and Woelders, H., 2003. Neutrophil recruirement and phagocytosis of boar spermatozoa after artificial

insemination of sows, and the effect of inseminate volume, sperm dose and specific additives in the extender. Reproduction, 125: 357-367.

134. Maxwell, W.M.C., de Graaf, S.P., Ghaoui, R.E.H., Evans, G., 2007. Seminal plasma effects on sperm handling and female fertility. Society for Reproduction and Fertility, 64: 13–38.

135. Mburu, J.N., Einarsson, S., Lundeheim, N., Rodrigues-Martinez, H., 1996. Distribution, number and membrane integrity of spermatozoa in pig oviduct in relation to spontaneous ovulation. Anim. Reprod. Sci., 45, 109-121.

136. McKenzie, F.F, 1931. A method for collection of boar semen. J. Am. Vet. Med. Assoc., 78: 244–246.

137. Mercat, M.J., Floch, M., Pellos, H., Runavot, P., 2000. Reduction in the sperm cell number per insemination dose. in: Boar Semen Preservation IV., edit.: Jonhson, L.A. and Guthrie, H.D., Allen Press Inc., Lawrence, KS., 253 (abs.).

138. Merlose, D.R., O'Hagen, C., 1961. Investigation into the technique of artificial insemination in the pig. in: Proceedings of the Fourth International Congress on the Animal Reproductoin, 4: 855-859.

139. Mezalira, A., Dallanora, D., Bernardi, M.L., Wentz, I., Bortolozzo, F.P., 2005. Influence of sperm cell dose and post-insemination backflow on reproductive performance of intrauterine inseminated sows. Reprod. Dom. Anim, 40: 1-5.

140. Mozo-Martín, R., Gil L., Gómez-Rincón, C.F., Dahmani, Y., García-Tomás, M., Úbeda, J.L., Grandía, J., 2012. Use of a novel double uterine

deposition artificial insemination technique using low concentrations of sperm in pigs. Vet. J., 193: 251–256.

141. Mullins, K.J., Saacke, R.G., 1989. Study of the functional anatomy of bovine cervical mucosa with special reference to mucus secretion and sperm transport. Anat. Rec., 225: 106-117.

142. Muller, K., Berg, C., Vitt, U., 2000. The acrosome reaction as in-vitro challenge to estimate the fertilization potential of stallion and bull sperm populations. 14 Intern. Congr. on Animal Reproduction, Stockholm, Sweden, vol. I: 94 (abs.).

143. Nasrin, S.J., Calogero, S., 2012. Seminal plasma: An essential attribute to spermatozoa (a review). J. Androl., 33: 536–451.

144. Nichol, R., Hunter, R.H., Cooke, G.M., 1997. Oviduct fluid pH in intact and unilaterally ovariectomized pigs. Can. J. Physiol., 75: 1069-1074.

145. Niwa, T., 1958. Artificial insemination with swine in Japan. Natl. Inst. Agric. Sci., Chiba-Shi, Japan.

146. Niwa, T., Hashizume, T., Togashi, M. and Konda, T., 1982. Influences of addition of prostaglandin $F2_{\alpha}$ to boar semen diluent upon viability of sperm, conception rate and achievement of piglets. Proceedings of the International Pig Veterinary Society 7th Congress. Association International de Veterinarios Especialistas en cerdos, Mexico, 216.

147. O'Leary, S., Jasper, J.M., Warnes, M.G., Armstrong, T.D., Robertson, A.S., 2004. Seminal plasma regulates endometrial cytokine expression, leukocyte recruitment and embryo development in the pig. Reproduction, 128: 237–247.

148. Odenhal, F., Barth, T., Jost, K., 1990. The effect of Depotocin (carbeotocin) added to insemination doses of boar semen on the conception rate of sows and their fertility. Pig News and Information, 11: 203 (abs.).

149. Ostanello, F., Cherpelli, M., Bertacchini, F., 2000. Uso della preinseminazione in un allevamento con problemi di ipofertilita evista (scrofe). Annual meeting of Italian society of swine pathology and rearing, Piacenza (abs).

150. Overstreet, J.L., Cooper, J.W., 1978. Sperm transport in the reproductive tract in the female rabbit. The rapid transit phase of transport. Biol. Reprod., 19: 101-114.

151. Paig, J. M., Genis, M. T. and Crespo, J. A., 1992. Parturition rate improvement in a closed herd using DECOMOTON R in semen for artificial insemination (AI). Proceedings of the International Pig Veterinary Society, 12th Congress Royal Netherlands Veterinary Association, Boxel, 441.

152. Panzardi, A., Corcini, D., Mirapalheta Madeira, E., Piassi, L., Mattos, R., da Silva Pinto, L., João Deschamps J., Lucia JrJ., 2010. Genetic paternity test for piglets generated by hetespermatic cervical and post-cervical artificial insemination. Acta Veterinaria Brasilica, 4, 3: 168-175.

153. Peltoniemi, O.A.T., Love, R.J., Heinonen, M., Tuovinen, V., Saloniemi, H., 1999. Seasonal and management effects on fertility of the sow: a descriptive study. Animal Reproduction Science, 55: 47-61.

154. Petrunkina, A.M., Friedrich, J., Drommer, W., Bicker, G., Waberski, D., Töpfer-Petersen, E., 2001. Kinetic characterization of the changes in protein tyrosine phosphorylation of membranes, cytosolic Ca^{2+}

concentration and viability in boar sperm populaions selected by binding to oviductal epithelial cells. Reproduction, 122: 469-480.

155. Phillips, P.H., Lardy, H.A., 1940. A Yolk-Buffer Pabulum for the Preservation of Bull Semen. J. Dairy Sci., 23: 399-404.

156. Polge, C., 1956. Artificial insemination in pigs. Vet. Rec., 68: 62-76.

157. Polge, C., Salamon, S., Wilmut, I., 1970. Fertilizing capacity of frozen boar semen following surgical insemination. Vet. Rec., 87: 424–428.

158. Prunier, A., Quesnel, H., Messias De Braganca, M., Kermabon, A.Y., 1996. Environmental and seasonal influences on the return-to-oestrus after weaning in primiparous sows: a review. Livestock Production Science, 45: 103-110.

159. Pursel, V.G., Johnson, L.A., 1975. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. Anim. Sci., 40, 1: 99–102.

160. Ramirez Ovalle, F., 2002. Aplicación de semen muerto y del plasma seminal sintético en el estro anterior a la primera inseminación en nulíparas para evaluar su respuesta reproductive. Doctoral Thesis, Universidad Mayor, Escuela Medicina Veterinaria, Santiago de Chile

161. Rath, D., Long, C.R., Dobrinsky, J.R., Welch, G.R., Schreier, L.L., Johnson, L.A., 1999. In vitro production of sexed embryos for gender preselection: high-speed sorting of X-chromosome-bearing sperm to produce pigs after embryo transfer. J. Anim. Sci., 77, 12: 3346-3352.

162. Rath, D., 2002. Low dose insemination in the sow: a review. Reprod. Dom. Anim., 37: 201-205.

163. Reicks, D., Lapuente, S., Goya, A., Garcia, J., 1999. Synthetic seminal plasma (Predil MR-A) for optimization of reproductive effiency in gilts. Proceedings of 30th American Association of swine practitioners, St. Louis (MO), USA, 77-99.

164. Rekiel, A., Sujka, E., 2007. Wplyw stymulacji dróg rodnych syntetyczna plazma nasienia na wyniki rozrodu loszek i loch. Medycyna Wet., 63, 6: 703-707.

165. Rippel, N., Althouse, G., 2002. Transcervical insemination: effect of variation in total sperm number/dose on fertility. Proc. Am. Assoc. Swine Vet., 4: 63-65.

166. Roberts, P.K., Bilkei, G., 2005. Field experiences on postcervical artifical insemination in the sow. Reprod. Dom. Anim., 40: 489-491.

167. Robertson, S.A., 2007. Seminal fluid signaling in the female reproductive tract: lessons from rodents and pigs. J. Anim. Sci., 85:36-44.

168. Roca, J., Rodriguez-Martinez, H., Vazque, J.M., Bolarin, A., Hernandez, M., Saravia, F., Wallgren, M., Martinez, E.A., 2006. Strategies to improve the fertility of frozen-thawed boar semen from artificial insemination. in: Ashworth, C.J. and Kraeling, R.R. (eds), Control of Pigs Reproductoin VII. Nottingham University Press, Nottingham, 261-275.

169. Roca, J., Parrilla, I., Rodriguez-Martinez, H., Gil, M.A., Cuello, C., Vazquez, J.M., Martinez, E.A., 2011. Approaches towards efficient use of boar semen in the pig industry. Reprod. Domest. Anim., 46, suppl 2: 79-83.

170. Roca Aleu, J., 2014. Swine artificial insemination: which technique to use and how many sperm per dose? https://www.pig333.com.

171. Rocha-Chavez, G., Troedsson, M.H.T. and Rozeboom, K.J., 2000. Boar seminal plasma regulates neutrophil chemotaxis and sperm cell phagocytosis after mating the sow (in vitro studies). Memorias del International pig veterinary society congress en Australia.

172. Rodríguez-Martínez, H., Saravia, F., Wallgren, M., Martínez, E,A., Sanz, L., Roca, J., Vázquez, J.M., Calvete, J.J., 2010. Spermadhesin PSP-I⁄ PSP-II heterodimer induces migration of polymorphonuclear neutrophils into the uterine cavity of the sow. J. Reprod. Immunol., 84: 57-65.

173. Rodríguez-Martínez, H., Kvist, U., Ernerudh, J., Sanz, L., Calvete, J.J., 2011. Seminal plasma proteins: what role do they play? Am. J. Reprod. Immunol., 66: 11–22.

174. Romo-Valdez, J., Romo-Rubio, J., Barajas-Cruz, R., Güémez-Gaxiola, H., Rodríguez Gaxiola, M., Urías-Castro, C., 2017. Efecto de la adición de oxitocina al semen en la infertilidad estacional de las cerdas. Abanico Veterinario, 7, 2: 22-33.

175. Rozeboom, K.J., Troedsson, M.H.T. and Crabo, B.G., 1998. Characterization of uterine leukocyte infiltration in gilts after artificial insemination. J. Reprod. Fertil, 114: 195-199.

176. Rozeboom, K.J., Troedsson, M.H., Molitor, T.W., Crabo, B.G., 1999. The effect of spermatozoa and seminal plasma on leukocyte migration into the uterus of gilts. J. Anim. Sci., 77: 2201-2206.

177. Rozeboom, K.J., Reicks, D.L. and Wilson, M.E., 2004. The reproductive performance and factors affecting on-farm application of low-dose intrauterine deposit of semen in sows. J. Anim. Sci., 82: 2164-2168.

178. Roşca, P., Drugociu, D., Runceanu, L., 2006. Intrauterine insemination in sows. U.S.A.M.V.Iaşi, Cercetări Agronomice în Moldova, ed. „Ion Ionescu de la Brad”, 4, 128: 51-54.

179. Sanchez-Sanchez, R., 2006. Tecnicas de insemination artificial. In: Bonet, S., Martinez, E., Rodriguez, J.E., Barrera, X. Manual de tecnicas de reproduccion asistida en porcino. ed. Univesitat de Girona and red tematica nacional de reproduccion porcina, 165-174.

180. Satake, N., Elliott, R.M., Watson, P.F., Holt W.V., 2006. Sperm selection and competition in pigs may be mediated by the differential motility activation and suppression of sperm subpopulations within the oviduct. J. Exp. Biol., 209: 1560-1572.

181. Sbardella, P.E., Ulguim, R.R., Fontana, D.L., Ferrari, C.V., Bernardi, M.L., Wentz, I., Bortolozzo, F.P., 2014. The post-cervical insemination does not impair the reproductive performance of primiparous sows. Reprod. Domest. Anim., 49, 1: 59-64.

182. Schuberth, H.J., Taylor, U., Zerbe, H., Waberski, D., Hunter, R., Rath, D., 2008. Immunological responses to semen in the female genital tract. Theriogenology, 70: 1174-1181.

183. Scott, M.A., 2000. A glimpse at sperm function in vivo: sperm transport and epithelial interaction in the female reproductive tract. Anim. Reprod. Sci., 60-61: 337-348.

184. Semenov, V.I., 1987. The action of oxytocin and Oestrophan on fertility of sows. Zhivotnovodstvo, 4: 55-57.

185. Semenov, V.I., 1988. The use of hormone preparations in pig insemination. Nauchey Osnovy Razvitiya Zhivotnovod v BSSR, 18: 47-51.

186. Serret, C.G., Alvarenga, M.V.F., Corcia, A.L.P., Dias, C.P., Corcini, C.D., Correa, M.N., Deschamps, J.C., Bianchi, I., Lucia, Jr.T., 2005. Intrauterine artificial insemination of swine with different sperm concentration, parities and methods for prediction of ovulation. Anim. Reprod., 2, 4: 250-256.

187. Singleton, W. & Diekman, M., 2009. Phisiology and Anatomy of Sows. Department of Animal Science, Purdue University, http://www.ansc.purdue.com

188. Soede, N.M., Wetzels, C.C.H., Zondag, W., de Koning, M.A.I., Kemp, B., 1995. Effects of time of insemination relative to ovulation as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. J. Reprod. Fertil., 104: 99-106.

189. Soede, N.M., Kemp, B., 1997. Expression of oestrus and timing of ovulation in pigs. J. Reprod. Fertil., suppl. 52: 91-103.

190. Soriano-Úbeda, C., Matás, C., García-Vázquez, F.A., 2013. An overview of swine artificial insemination: Retrospective, current and prospective aspects. Journal of Experimental and Applied Animal Science, vol. 1, 1: 67-97.

191. Srisuwan, Ch., 2001. Results with the use of synthetic seminal plasma (Predil MR-A®) in gilts and sows. Technical Seminar, Fac. Agric. Kasetsart Univ. Nakhon Pathom, Thailand.

192. Stancic, B., 1997a. Interval zalučenje-estrus u krmača. 1. Faktori koji određuju trajanje ovog intervala (pregled). Vet. glasnik, 51, 3-4: 109-118.

193. Stancic, B., 1997b. Interval zalučenje-estrus u krmača. 2. Uticaj trajanja ovog intervala na vrednost prašenja i veličinu legla (pregled). Vet. glasnik, 51, 3-4: 119-126.

194. Stancic, B., Radovic, I., Garcin, M., 2000. Interval zalicenje-estrus I njegov uticaj na fertilitet krmaca (pregled). Arhiv za poljop. Nauke, 61, 213: 85-92.

195. Stancic, B., 2002. Uticaj sezone na fertilitet krmača (pregledni rad). Vet. glasnik, 56, 1-2: 97-104.

196. Stancic, B., Grafenau, P., Hrenec, P., Radovic, I., Garcin, M., 2006. The influence of catheter types and postinsemination cervix stimulation on the sows fertility. Biotechnology in animal husbandry, 22: 273-281.

197. Stančić, B., Božić, A., Radović, I., Grafenau, P., Pivko, J., Chrenek, P., Stančić, I., 2007. Sows atrificial insemination with reduced spermatozoa number in dose (a review). Contemporary Agriculture, 56: 1-11.

198. Stančić, B., Radović, I., Stančić, I., Dragin, S., Božić, A., Gvozdić, D., 2010. Fertility of sows after intracervical or intrauterine insemination with different spermatozoa number in reduced volume doses. Acta Vet., Beograd, 60: 257–262.

199. Stančić, I., Dragin, S., Stančić, B., Harvey, R., Božić, A., Anderson, R., 2012. Effects of breed, spermatozoa concentration, and storage on progressive motility of extended boar semen. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 3: 287–295.

200. Steverink, D.W.B., Soede, N.M., Browman, E.G., Kemp, B., 1998. Semen backflow after insemination and its effect on fertilization results in sows. Anim. Reprod. Sci., 54: 109-119.

201. Steverink, D.W.B., Soede, N.M., Groenland, G.J.R., van Schie, F.W., Noordhuizen, J.P.T.M., Kemp, B., 1999. Duration of oestrus in relation to reproduction results in pigs on commercial farms. J. Anim. Sci., 77: 801-809.

202. Strzežek, J., Wysocki, P., Kuklinska, M., 2005. Proteomics of boar seminal plasma – current studies and possibility of their application in biotechnology of animal reproduction. Reprod. Biol., 5: 279–290.

203. Suarez, S., Redfren, K., Raynor, P., Martin, P., Philips, D.M., 1991. Attachment of boar sperm to mucosal explants of oviduct in vitro: possible role in formation of a sperm reservoir. Bio.l Reprod., 44: 998-1004.

204. Suarez, S.S., 2002. Formation of a reservoir of sperm in the oviduct. Reprod. Domest. Anim., 37: 140-143.

205. Suarez, S.S., Pacey, A.A., 2006. Sperm transport in the female tract. Hum. Reprod., 12: 23-37.

206. Szucs, I., 2013. Sectorial economy II. 11.4. Pork production phases. https://www.tankonyvtar.hu

207. Tarocco, C., Kirkwood, R., 2002. Vaginal length is not related to subsequent litter size of gilts. J. Swine Health Prod., 10: 125–126.

208. Tast, A., 2002. Endocrinological basis of seasonal infertility in pigs. PhD Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Finland, Helsinki.

209. Taylor, U., Rath, D., Zerbe, H., Schuberth, H.J., 2008. Interaction of intact porcine spermatozoa with epithelial cells and neutrophilic granulocytes during uterine passage. Reprod. Domest. Anim., 43: 166-175.

210. Taylor, U., Schuberth, H.J., Rath, D., Michelmann, H.W., Sauter-Louis, C., Zerbe, H., 2009. Influence of inseminate components on porcine

leucocyte migration in vitro and in vivo after pre- and post-ovulatory insemination. Reprod. Domest. Anim., 44: 180-188.

211. Tienthai, P., Kjellén, L., Pertoft, H., Suzuki, K., Rodriguez-Martinez, H., 2000. Localization and quantitation of hyaluronan and sulfated glycosaminoglycans in the tissues and intraluminal fluid of the pig oviduct. Reprod. Fertil. Dev., 12: 173-182.

212. Timotijevic, M., Stancic, B., Garcin, M., 2003. Postlaktacijsko estrusno reagovanje i fertilitet krmača (monografija). Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

213. Tomlinson, M.J., White, A., Barratt, C.L., Bolton, A.E., Cooke, I.D., 1992. The removal of morphologically abnormal sperm forms by phagocytes: a positive role for seminal leukocytes. Hum. Reprod., 7: 517-522.

214. Troedsson, M.H., Scott, M.A., Liu, I.K., 1995. Comparative treatment of mares susceptible to chronic uterine infection. Am. J. Vet. Res., 56: 468-472.

215. Troedsson, M.H.T., 1997. Therapeutic consideration for mating-induced endometritis. Pferdeheilkunde, 13: 516-520.

216. Ulguim, R.R., Bortolozzo, F.P., Wentz, I., Johnston, M., Webel, S.K., Arend, L., Knox, R.V., 2018. Ovulation and fertility responses for sows receiving once daily boar exposure after weaning and OvuGel® followed by a single fixed time post cervical artificial insemination. Theriogenology, 10, 5, 27-33. https://doi.org/0.1016/j.theriogenology.2017.09.005.

217. Uñates, D.R., Guidobaldi, H.A., Gatica, L.V., Cubilla, M.A., Teves, M.E., Moreno, A., Giojalas, L.C., 2014. Versatile action of picomolar

gradients of progesterone on different sperm subpopulations. PLoS One, 9: e91181.

218. Vakanjac, S., Magas, V., Babic, V., Maletic, M., Đuric, S., Apic, J., Mirilovic, M., 2017. Analysis of reproductive parameters after intrauterine insemination of sows with semen stored for different time period. Veterinarski Glasnik, 71, 2: 98-106.

219. Valladares Marazan, R., 2003. Efecto de la disminucion en la concentracion espermatica en las dosis de insemination artificial en cerdas utilizando inseminacion pos cervical. Trabajo de licenciatura, Zamorano, Honduras.

220. Van Haandel, B., Charagu, P., 2015. Gene transfer and genetic improvement. International pig topics, 2, 2: 23-27.

221. Vázquez, J.M., Roca, J., Gil, M.A., Cuello, C., Parrilla, I., Vázquez, J.L., Martínez, E.A., 2008. New developments in low-dose insemination technology. Theriogenology, 70, 8: 1216–1224.

222. Waberski, D., Döhring, A., Ardon, F., Ritter, N., Zerbe, H., Schubert, H.J., Hewicker-Trautwen, M., Witze, F.K., Hunter, R.H.F., 2006. Physiological routes from intra-uterine seminal contents to advancement of ovulation. Acta Vet. Scand., 48: 1–8.

223. Watson, P.F.,Dewey, C.E., 1993. The association between weaning-to-estrus interval and sow efficiency. J. Swine Heath Prod., 1: 10-15.

224. Watson, P.F., Behan, J.R., 2002. Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. Theriogenology, 57: 1683–1693.

225. Weitze, F.K., 1990. The use of long-term extender in pig AI: a view of the international situation. Pig News and Information, 11: 23–26.

226. Weitze, F.K., Wagner-Rietschel, H., Waberski, D., Richter, L., Krieter, J., 1994. The onset of heat after weaning, heat duration, and ovulation as major factors in AI timing in sows. Reprod. Dom. Anim., 29: 433-443.

227. Wentz, I., Bortolozzo, F.P., 2004. Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination at different pre-ovulatory intervals. Anim. Reprod., 1, 1: 106-110.

228. Wettemann, R.P., Bazer, F.W., 1985. Influence of environmental temperature on prolificacy of pigs. Journal of Reproduction and Fertility, suppl. 33: 199-208.

229. Williams, S., 2002. Insemination artificial postcervical. Agrupacion de Consultores en Tecnologia del Cedro, Facultad de Ciencias Veterinarias. UNPL, La Plata, Argentina.

230. Wilson, M.R., & Dewey, C.E., 1993. The associations between weaning-to-estrus interval and sow efficiency. Swine Health Prod., 1, 4: 10-15

231. Yoshida, M., Yoshida, K., 2011. Sperm chemotaxis and regulation of flagellar movement by Ca^{2+}. Molec. Hum. Reprod., 17: 457-465.

232. Zerobin, K., Spörri, H., 1972. Motility of the bovine and porcine uterus and fallopian tube. Adv. Vet. Sci., Comp. Med., 16: 303-354.