

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - НИИ РЕПРОБИОТЕХ“



**Национална научна програма:
„Репродуктивните биотехнологии в
животновъдството в България,
РЕПРОБИОТЕХ“**

**ОКОНЧАТЕЛЕН СЪДЪРЖАТЕЛЕН ДОКЛАД
2018 - 2021 г.**

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

Основната цел на Националната научна програма „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България (ННП РЕПРОБИОТЕХ) е развитие и прилагане в практиката на иновативни научни постижения при размножаването на животните.

Разработването на тази програма е крайно необходимо с оглед отговор на потребностите на българския и международния пазар от хранителни продукти. Прилагането на система от биотехнологични методи за ускорено възпроизводство и увеличаване на биомасата в рамките на една до три години е една от целите. От друга страна, подобряването на репродуктивни параметри, е от съществено значение за намаляване на разходите, особено по отношение на селекцията. Иновативните подходи изискват използването на най-новите постижения в областта на репродуктивните биотехнологии и качествения контрол на биологичния и генетичния потенциал.

Националната научна програма е насочена към постигане на три специфични цели, свързани с репродуктивните биотехнологии в животновъдството:

1. Използване свеж и криоконсервиран генетичен материал.
2. Подобряване на репродуктивния потенциал чрез използване на нехормонални биоактивни добавки през значимите за репродукцията периоди.
3. Трансфер на знания и репродуктивни биотехнологии.

Оценката за изпълнението на Програмата е основана на анализа на силните и слабите страни. Като позитивни могат да се отчетат - стабилен, макар и малък пазар; сравнително ниски първоначални инвестиции; ниски регулаторни изисквания към продукцията; наличие на производствена база. Недостатък е липса на традиции, знания и умения; неразвита развъдна и селекционна работа.

Националната научна програма за прилагане на репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България се осъществява чрез съвместно сътрудничество между Тракийския университет, Института по биология и имунология на размножаването „Акад. К. Братанов“ при Българската академия на науките, Селскостопанска академия, Аграрен университет и Университет по хранителни технологии.

„Партньорски организации включени в Консорциума за изпълнение на ННП „Репробиотех“

Тракийски университет е акредитиран с много висока оценка 9,27 (при максимална 10) от Националната агенция за оценяване и акредитация в България. Член е на Европейската асоциация на университетите (EUA) и Международната асоциация на университетите (IAU). В университета се обучават над 9000 студенти от България и света, от повече от 600 висококвалифицирани преподаватели, както и от гост лектори от други университети в страната и чужбина, в над 70 бакалавърски и магистърски специалности. Университетът провежда повече от 70 докторски процедури. Издадени са и над 15000 свидетелства за квалификации и следдипломни

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

специализации. В структурата на Тракийски университет са включени 9 структурни звена: Аграрен факултет с учебно-експериментална база; Ветеринарномедицински факултет с три клиники; Медицински факултет с Университетска болница; Педагогически факултет; Факултет „Техника и технологии“, Ямбол; Медицински колеж; Филиал, Хасково; Департамент за информация и повишаване квалификацията на учителите. www.uni-sz.bg.

Институтът по биология и имунология на размножаването „Академик Кирил Братанов“ при Българска академия на науките е акредитиран в три научни специалности от НАЦИД, с висока оценка от 9.54 за: „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването“. В своята 80 годишна история от създаването си, Институтът е утвърден научен център в националното и международно научно пространство с фундаментални и приложни изследвания в областта на репродукцията и контрол на репродуктивния процес при хора и животни. В Института са разработени едни от първите биотехнологии за изкуствено осеменяване, микроманипулации и ембриотрансфер, с оглед повишаване на заплодяемостта и плодовитостта на животните със стопанско значение. В Института работят млади учени и докторанти и има защитени над 130 дисертации, издадени са 196 учебници, книги, сборници и монографии, има защитени над 68 авторски свидетелства и патенти. В последните 25 г. са публикувани 1460 публикации с общ импакт факто 525.452, разработени са над 237 проекта, някои от които финансирани от международни научни програми и от ЕС. Институтът е организатор на 61 научни прояви и от 1964 г. организира и провежда „Международен симпозиум по имунология на репродукцията“. Учени от Института са осъществили Международно сътрудничество с 32 научни институции. В последните години в Института има нови разработки върху глобалните промени на геномно, транскриптомно и протеомно ниво, свързани с биологичните процеси в норма и патология на репродуктивната система, и свързаните с нея органи. <http://ibir.bas.bg/>

Селскостопанската академия (ССА) е национална автономна бюджетна организация към министъра на земеделието, храните и горите за научни изследвания, за научно-приложна, иновативна и образователна дейност в областта на земеделието и храните. Академията е юридическо лице по Закона за селскостопанска академия. Тя осъществява дейността си в рамките на научната и образователна политика на България и ЕС, като основните приоритети на Националната стратегия за развитие на научните изследвания са залегнали в дейността на Селскостопанска академия. Броят на учените до средата на 2018 г. е 531, а възрастовата структура се подобрява, като делът на учените до 35 г. се повишава от 11.6% за предходната година на 12.1%. Същевременно, делът на учените на възраст над 60 г. се запазва на равнище около 22%. В структурата на Селскостопанска академия влизат 25 научни института и 4 научни центъра,

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

равномерно разпределени на територията на цялата страна; обучават се докторанти по 31 докторски програми, одобрени от Националната агенция по обучение и акредитация (НАОА). Според наукометричните данни за 2017 г., публикуваните научни статии в списания са 572, от които 22% в списания с импакт фактор, 36% в чуждестранни списания и 45% в български списания без импакт фактор. Броят на цитиранията е 2 192, от тях 42% в списания с импакт фактор, 35% в чуждестранни и 43% в български списания без импакт фактор“.

Аграрният университет е акредитиран през 2013г. от Националната агенция за оценяване и акредитация с оценка 9,29 по десетобалната система. Акредитацията е валидна до 2019 г. Обучението на всички български и чуждестранни студенти се осъществява в четири факултета: Факултет по агрономство, Факултет по лозаро-градинарство, Факултет по растителна защита и агроекология и Факултет по икономика. Катедра „Животновъдни науки“ е наследник на едни от първите катедри на Агрономическия факултет и Аграрния университет, поставили началото на висшето аграрно образование в гр. Пловдив. Катедрата е с богата история и традиции. През годините, обучението по животновъдство в Университета претърпява различни промени, но винаги е заемало водещи позиции в аграрното образование. www.au-plovdiv.bg.

Университетът по хранителни технологии, Пловдив (УХТ) е с над 65-годишна история. През годините на своето развитие УХТ развива многостранни международни контакти и има активна международна дейност. УХТ се състои от три факултета – Технологичен, Технически и Стопански. Днес УХТ, Пловдив е авторитетен национален център на хранителната и биотехнологична наука, технология и образование в България. В катедра Биотехнология вече повече от 50 години се подготвят специалисти в областта на индустриалните биотехнологии, които са намерили успешна реализация в редица фирми, научни организации, лаборатории и университети както в България, така и по цял свят. www.uft-plovdiv.bg.

Работни колективи

Тракийски университет	Института по биология и имунология на размножаването „Акад. К. Братанов“, БАН	Селскостопанска академия	Аграрен университет	Университет за хранителни технологии.
1. Проф. д-р Наско Василев 2. Проф. дхн Веселина Гаджева 3. Проф. Анелия Миланов	1. проф. С.Хайрабедян, дбн 2. проф. К. Тодорова, дбн	1.проф.дн Живко Кръстанов 2.проф. д-р Стайка Лалева 3.проф. Петя Славова 4.проф Йовка Попова	1.проф. д-р В. Николов 2.гл. ас. д-р Р. Малинова 3.гл. ас. д-р Мая Попова	1. проф. дтн инж.Алберт Иванов Кръстанов 2. доц. д-р инж. Александър

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

<p>4. Проф. д-р Юри Митев 5. Проф. д-р Чонка Митева 6. Доц. д-р Тончо Пенев 7. Доц. д-р Георги Бонев 8. Доц. д-р Станислав Димитров 9. Доц. д-р Антон Антонов 10. Гл. ас. д-р Анатоли Стефанов Атанасов 11. Гл. Ас. Д-р Иван Росенов Фасулков 12. Гл. Ас. Д-р Манол Петков Карадаев 13. Гл. ас. Николина Русинова 14. доц. д-р Галина Николова 15. Гл. ас. д-р Радка Влаева 16. Гл. ас. д-р Димо Димов 17. доц д-р Янка Карамалакова 18. Асистент Росица Милева 19. Мл. асистент Бояна Иванова 20. Цветелина Петкова –редовен докторант 21. Радена Ненова – задочен докторант</p>	<p>3. доц. Е.Кистанова, доктор 4. доц. д-р Б. Георгиев, доктор 5. доц. Д. Абаджиева, доктор 6. доц. Д. Зашева, доктор 7. гл.ас. П. Таушанова 8. асистент В.Младенова, доктор 9. асистент Ц. Цветков, 10. Илза Филипова 11. Райна Стойкова</p>	<p>5. проф. дн Йордан Марчев 6. доц. д-р Т. Ангелова 7. доц. д-р Йорданка Илиева 8. доц. д-р Пенчо Пенчев 9. доц. Никола Методиев 10. Доц. д-р Янчо Тодоров 11. Доц. д-р Таня Тодоров 12. доц. д-р Неяна Станчева 13. доц. д-р Светослава Стойчева 14. доц. д-р Пенко Зунев 15. доц д-р Цветомира Банчева 16. гл. ас. д-р Даниела Ст. Йорданова 17. гл.ас. д-р В.Карабашев 18. гл. ас. Евгени Видев 19. гл.ас. Николай Иванов 20. гл.ас. д-р Георги Калайджиев 21. ас. Даниела Митева 22. Цветелина Тодорова – редовен докторант ЗИ, Ст. Загора 23. Иван Славов – докторант 24. Георги Нончев - докторант</p>	<p>4. ас. д-р С. Карамфилов</p>	<p>Красимиров Славчев 3. доц. д-р инж. Даша Спасова Михайлова 4. доц. д-р инж. Деница Елиянова Блажева 5. д-р инж. Мария Стефанова Бръзкова</p>
---	---	---	---------------------------------	---

Основни цели на Работните пакети

Цел на РП 1. Работи се по подобряване организацията и контрола при размножаване на ЕПЖ чрез прилагане на протоколи за синхронизиране на еструса и програмирано изкуствено посемняване, както с включване на БАД за рано и прецизно определяне на репродуктивния потенциал на разплодните животни.

Цел на РП 2. Селекция на донори на семенна течност чрез рано определяне на репродуктивния им потенциал. Получаване, обработка и транспорт на охладена семенна течност. Изпитване на протоколи за синхронизация на еструса и

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

прилагане на изкуствено осеменяване на животни в размножителен и неразмножителен сезон с охладена семенна течност.

Цел на РП 3. Разработване на оптимизирана биотехнология и нова среда за съхранение и криоконсервация на семенна течност и провеждане на изкуствено осеменяване на различни породи кобили и магарци, отглеждани в България. Внедряване на методология за ранно и прецизно определяне на репродуктивния потенциал на разплодните животни чрез специфични фенотипни белези и маркерни молекули, свързани с оплодителния потенциална гаметите, като иновация в коневъдството.

Работен Пакет 1

1. Селекция, подготовка и получаване на генетичния материал

Аграрен университет

През втората програмна година, колективът на Аграрен Университет – Пловдив, работен пакет – РП1 „Репродуктивни биотехнологии при едри преживни животни (крави и биволи)“ има за цел да проучи възможностите за собствено бикопроизводство при породите Абердин Ангус и Лимузин в условията на страната ни. Фермите, в които се извършват работните дейности по програмата са под селекционен контрол на “Национална асоциация по месодайно говедовъдство в България – София”. Месодайното говедовъдство в България е подотрасъл, към който се обръща все по- голямо внимание през последните години.

Постигнати цели по РП1 при първи отчетен период.

- Въз основа на комплексно проучване са избрани мъжки телета от утвърдени родители от породите Абердин Ангус и Лимузин.
- Взети са кръвни проби за установяване на произход и здравен статус.
- Избрани са най-подходящите мъжки животни, които ще постъпят в СИО след направените кръвни тестове. Проследява се техният растеж и развитие в бозайния период.
- Събрана е информация за категорията утвърдени – бикопроизводителки, която да послужи в последващ етап при производство на разплодни бици или ембриони.
- Колекционирана е информация за оползотворяването на фуража. Предстои да се извърши анализ на икономическата ефективност за получаване на кг-прираст при мъжки разплодни животни от месодайните стада.
- Приключил е първи контролен период в СИО за изпитвани мъжки телета от породата Абердин Ангус.
- Започната е преценката на семенна течност и изпитване на криоконсервация с различни сперморазредители.

1.2. Изпитване на БАД върху виталитета на сперматозоиди - направена схема и методология за третиране и е проведен опит.

2. Технологични аспекти за репродукция

2.1 Изпитване на протоколи за синхронизация на еструса с фиксирано време за изкуствено осеменяване при млечни породи.

2.1.1. Сезонни промени в оксидативния стрес и антиоксидантната активност на млечни крави през преходния период и влиянието върху заплодяемостта, Тракийски университет

Преходният период се определя, като най-критичния по отношение на здравословното състояние на млечните крави по време на лактационния цикъл. Животните претърпяват драматични промени в енергийния баланс, промяна на

имунната система и баланса между оксидантите и антиоксидантите (Leblanc, 2010 25, Sundrum, 2015 40).

Целта на проучването е да се определят нивата на оксидативния стрес и антиоксидантната активност на малондиалдехида (MDA), глутатион пероксидаза (GSH-Px), супероксид дисмутаза (SOD), протеин карбонилно съдържание (PPC) при млечни крави през преходния период, в зависимост от сезона и отраженито на тези оксидант-антиоксидантни показатели върху заплодяемостта след приложен Presynch/Ovsynch протокол на 45-ия ден след раждането.

Изводи

Резултатите, получени в настоящото проучване, дават основание да се заключи, че нивата на оксидантите и антиоксидантите в кръвта оказват съществено влияние върху репродуктивните показатели, особено при кравите родили през летния сезон с високи нива на ROS, MDA, SOD и PPT, и ниска активност на GSH-Px.

2.1.2. ЗАПЛОДЯЕМОСТ НА БИВОЛИЦИ ОТ ПОРОДАТА БЪЛГАРСКА МУРРА СЛЕД ПРИЛОЖЕНИЕ НА PRESYNCH/OVSYNCH ПРОТОКОЛ ПРЕЗ НЕРАЗМНОЖИТЕЛЕН И РАЗМНОЖИТЕЛЕН СЕЗОН ЗИ, ШУМЕН, ССА; ТРАКИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ

Биволите са сезонно полициклични животни, проявяващи склонност към сезонност на репродуктивната функция в зависимост от продължителността на светлинния ден (Sule et al., 2001).

Комбинираното третиране с гонадотропни хормони и простагландини през размножителен или нерамножителен сезон, целят оптимизиране ефекта на прилаганите протоколи за синхронизация на еструса и овулацията (Barile et al., 2004; De Rensis & Lopez-Gatius, 2007; Hammam et al., 2009). На тази основа при биволиците са разработени различни протоколи даващи възможност за фиксирано изкуствено осеменяване (Paul & Prakash, 2005; Carvalho et al., 2007; Warriach et al., 2008).

Целта на представеното проучване беше да се установи заплодяемостта на биволици от породата Българска Мурра, подложени на синхронизация на еструса чрез Presynch/Ovsynch протокол през нерамножителен и размножителен сезон.

Изводи

Използваният Presynch/Ovsynch протокол води до успешно заплождаване на биволици от породата Българска Мурра в размножителен и нерамножителен сезон. По-добри резултати са получени при хормонално третиране на биволици с диаметър на фоликула >10 mm, *последвани от наличие на жълто тяло и фоликул <10 mm в диаметър в яйчниците.*

2.1.3. ЗАПЛОДЯЕМОСТ НА МАЛАКИНИ ОТ ПОРОДАТА БЪЛГАРСКА МУРРА СЛЕД ПРИЛОЖЕНИЕ НА OVSYNCH ПРОТОКОЛ ПРЕЗ НЕРАЗМНОЖИТЕЛНИЯ СЕЗОН

Изкуственото осеменяване се доказва като важна репродуктивна биотехнология при размножаването на биволи, водеща до подобряване на генетичния потенциал и контрол на полово предаваните инфекции. Понастоящем изкуственото осеменяване с фиксирано време се прилага рутинно в репродуктивните програми в биволовдните ферми. Тези протоколи са предназначени да контролират както лутеалната, така и фоликуларната фаза на половия цикъл, позволявайки изкуствено осеменяване без откриване на еструс и постигане на задоволителна заплодяемост по време на неразмножителния сезон (Rabida and Gofur, 2017).

Цел

Проучване заплодяемостта на малакини от породата Българска Мурра след приложена синхронизация на еструса чрез Ovsynch протокол през неразмножителен (зимен) период.

Изводи

Използваният Ovsynch протокол с фиксирано време на изкуствено осеменяване води до успешно заплождане на малакини от породата Българска Мурра в неразмножителен (зимен) сезон и може успешно да се прилага за преодоляване на сезонния анеструс при младите животни, навлизащи в разплодна възраст и съответна кондиция през зимния сезон. По-добър резултат се получава при хормонално третиране на животни с размер на фоликула ≥ 10 mm.

2.1.4. Проучване влиянието на оксидативния стрес върху заплодяемостта при биволици от порода Българска Мурра с приложен Presynch/Ovsynch през размножителен и неразмножителен сезон. Тракийски университет, ЗИ-Шумен, ССА

Реактивните кислородни видове (ROS) са продукт на нормалния метаболизъм на кислорода и играят важна роля при редица физиологични процеси като фагоцитоза, клетъчна диференциация и др. ROS се образуват непрекъснато като нормални странични продукти на клетъчния метаболизъм и в ниски концентрации са от съществено значение за много физиологични процеси, като фосфорилиране на протеини, активиране на транскрипционни фактори, клетъчна диференциация, апоптоза, узряване на яйцеклетки, стероидогенеза, клетъчен имунитет и клетъчна защита срещу микроорганизми. При нарастване на концентрациите им над физиологичното ниво се достига да оксидативен стрес, предизвикващ неблагоприятни ефекти (Goncalves et al., 2010).

Целта беше да се проучи заплодяемостта във връзка с оксидативния стрес при биволици от породата Българска Мурра след приложение на протокол Presynch/Ovsynch за синхронизация на еструса през размножителен и неразмножителен сезон.

Изводи

Беше установен повишен оксидативен стрес, изразяващ се в статистически достоверно повишение на ROS продуктите в кръвния серум, както и в понижена

активност на SOD при биволиците през размножителния сезон, в сравнение с неразмножителния. Най-висока активност се отчита при небременните биволици през летния сезон. Нивата на MDA са без статистически достоверна разлика между сезоните, като най-високи концентрации са отчетени при биволиците с установена бременност през размножителния сезон. Най-ниски нива на редуциран глутатион (GSH-Px) са регистрирани при небременните животни и през двата периода на изследване. Стойностите на общия азотен оксид и протеин карбонилното съдържание (PPC) са повишени при биволичите през размножителния сезон, като най-ниски нива са регистрирани при небременните животни.

2.1.5. Приложение на P4 RAPID TEST в управлението на репродуктивния процес при млечни крави

Аналитични методи за определяне на прогестерон, като газова хроматография (GC) и течна хроматография (LC), съчетана с масспектрометрия (MS) са най-популярни. Въпреки това, ензимно свързания имуносорбентен метод (ELISA) е алтернатива поради своята простота и точност. Повечето от прогестерон ELISA анализите се използват при биологични субстрати (мляко, урина и серум). В действителност, много от тях се прилагат за установяване на бременност при кравите (Kim et al., 2008; Otava et al., 2007; Sasser and Ruder, 1987).

Целта на настоящото проучване беше да се определят критериите (обща точност, чувствителност и специфичност) на P₄ Rapid test® при диференциране на млечните крави по отношение на цикличност и бременност.

Изводи

На базата на получените резултати могат да се направят следните изводи, които да се съблюдават при използване на тест рапид P₄ :

1. Изследването да се извършва в периода 22-24 ден след последното изкуствено осеменяване.
2. За изключване на фалшиво положителните (10.34%) и фалшиво отрицателните (18.52%) диагнози е препоръчително да се извършва двукратно през 10 дни след последното изкуствено осеменяване. По време на второто да се извършва задължително и ехографско изследване.
3. Диференциране на кравите с не регистриран еструс след раждането на циклиращи и нециклиращи с цел адекватна последваща терапия.

2.1.6. Приложение на ELISA тестове за откриване на свързани с бременността гликопротеини (PAGs) в серум и мляко при лактиращи крави

Диагностиката на бременността при кравите е съществена част от успешните практики за репродуктивно управление и ранното идентифициране на небременните животни и би намалило интервалите между осеменяванията и раждането, като позволи по-ранна ресинхронизация и последващо изкуствено

осеменяване. Разработени са различни методи (чрез палпация, ултразвук или химически тестове) за установяване на бременността при говеда.

Целта на настоящото изследване беше да се извърши оценка на показателите характеризиращи метода за ранна диагностика на бременност при млечни крави чрез определяне концентрациите на PAG в серум и мляко с помощта на търговски комплект ELISA (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, ME, САЩ).

Изводи

Показателите характеризиращи метода, като чувствителност, специфичност и точност на откриването на бременност с помощта на PAG ELISA тестове в серум и мляко на лактиращи крави са в приемливи граници. По-добри резултати са получени при PAG ELISA тест в серум, но без статистически значима разлика ($P < 0,2089$). Приемаме, че PAG ELISA тестовете са достатъчно специфични и чувствителни за диагностициране на ранна бременност в млечни ферми и може да се прилагат като алтернативен метод за диагностика на бременност.

2.1.7. STUDY OF PROTOCOLS FOR SYNCHRONIZATION OF ESTRUS IN BEEF CATTLE Аграрен университет – Пловдив

Организацията на възпроизводството в месодайното говедовъдството с прилагане на планово заплождане, допринася за получаването на по-високи икономически резултати в стадата (Rodgers et al., 2012). Използването на подходящи схеми за синхронизация на еструса при месодайни крави е ефективна технология, която постоянно се адаптира за постигането на по-висока заплодяемост (Roche and Diskin, 2001; Wiltbank and Pursley, 2014). Разработването на протоколи за синхронизация на еструса с фиксирано време на осеменяване увеличава използването на изкуствено осеменяване, както и намаляване на разходите, свързани с наблюдение на признаците на разгоненост в месодайните стада (Bó et al., 2018). Съществен проблем в стадата с бозещи телета е лактационния анеструс при кравите, водещ до трудности при заплождането в рамките на оптимален сервиз период (Lamb et al., 2010; Gadzirayi, 2010).

Целта на настоящото проучване, е да се изпитат различни протоколи за синхронизация на еструса, прилагани при месодайни крави и юници от породата Абердин Ангус, отглеждани в България.

Изводи

При крави и юници от породата Абердин Ангус са изпитани по два протокола за синхронизация на еструса и овулацията. По-висока заплодяемост е получена при кравите-69,7 %, спрямо 24,5 % при юниците, като разликите са достоверни ($P < 0.001$).

Между изпитаните протоколи за юниците, получената заплодяемост е с незначителни разлики, като процента на заплодените животни е 23 % (Протокол 1 за юници) и 25% (Протокол 2 за юници).

Двата проучени протокола за крави, имат по-висок процент бременност - 61,29 % (Протокол 1 за крави) и 75,6% (Протокол 2 за крави).

2.1.8. Изпитване на протоколи за синхронизация на овулацията при месодайни породи. Селскостопанска Академия, Институт по животновъдни науки - Костинброд

Целта на синхронизацията на овулацията е да се предизвика овулация в определен период от време, което елиминира необходимостта от мониторинг на еструса. Приложихме метода за синхронизация на овулацията с включени три хормонални инжекции. Първата инжекция на GnRH, която може да се направи по всяко време на цикъла води до овулация или лутеинизация на доминиращия фоликул при повечето крави. Нова вълна от фоликули се индуцира при всички крави, от които седем дни по-късно един фоликул става доминиращ. Лутеализата на цикличното жълто тяло, последвана от овулация, се индуцира 7 дни по-късно чрез прилагане на PGF2 α . Без допълнително третиране, интервалът между PGF2 α инжекция и овулация е силно променлив. Редица експерименти показват, че овулация е наблюдавана при всички крави в рамките на 32 часа. Животните могат да бъдат осеменени в определено време, без да е необходимо откриване на еструс.

По-голямата част от проучванията, цитирани в световната литература, са проведени върху млечни крави, но нашите резултати показват, че методът на пресинхронизация (PreSynch) и синхронизация на овулацията (OvSynch) може да се препоръча за използване в промишленото говедовъдство. Приложихме го на месодайни крави, отглеждани на пасище и осеменени изкуствено. Резултатите са сравними с тези на млечните крави. Проблемът не е биологичен, а по-скоро организационен, особено ако е комбиниран с изкуствено осеменяване. Методът може да се прилага целогодишно без голяма разлика в резултатите.

2.3. Оптимизиране на антибиотикотерапията на бактериални възпаления на матката при едри преживни животни. Тракийски университет

2.3.1. Фармакокинетиката на окситетрациклин при крави с клиничен метрит

Целта на настоящото проучване беше да се проучи фармакокинетиката на мускулно приложения окситетрациклин под формата на лекарствена форма с удължено действие при крави с клиничен метрит. Особено внимание беше обърнато на проникването на антибиотика в маточен секрет като заедно с това беше моделирано проникването на антибиотика в маточната тъкан. Като неразделна част от проучването на ефикасността на окситетрациклина бяха определени минималните потискащи концентрации на изолираните патогенните причинители на възпалението на матката при крави.

Разумното използване на антимикробни лекарства при лечение на бактериални инфекции при селскостопански животни е една от важните

ограничителни стъпки срещу селекция и разпространение на резистентност. Предизвикателството за практикуващите във фермите за млекодайни крави, е да прилагат адекватна програма за профилактика на болести и в случаи с клинично проявени инфекции на гениталния тракт, да ги лекуват ефективно, за да поддържат плодовитостта на кравите.

Изводи

Резултати от работата показват, че приложения фармакокинетичен-фармакодинамичен модел дава възможност да се предвиди ефективността на даден антибиотик и на тази база да се направи избор на антибиотикотерапия. Моделът за съвместната работа на клиницисти, микробиолози и фармаколози може да се прилага в бъдеще при необходимост от приложение на антибиотикотерапия с цел правилен избор на антибиотик, базиран на познания за разпределението на лекарственото вещество в организма и на чувствителността на патогенните микроорганизми.

2.3.2. Валидиране на LC-MS/MS метод за анализ на окситетрациклин в плазма на говедо

Оптимизирането на антибиотикотерапията изисква определяне на режими на дозиране въз основа на фармакокинетиката на антибиотиците. Това е свързано с анализ на свободните плазмени концентрации, дори и в късната фаза на елиминиране на лекарствени форми с удължено действие, като тези на окситетрациклин. Изисква се използването на чувствителни методи за определяне на концентрациите на антибиотика в плазма. Поради това целта беше да се валидира високочувствителен метод за анализ на окситетрациклин в биологични течности с възможности за приложение в бъдещи фармакокинетични проучвания и в изследвания за остатъчни вещества.

Валидираният метод е приложим в бъдещи изследвания на концентрациите на окситетрациклин в биологични течности. Методът може да се прилага и за проследяване на остатъчни вещества тетрациклини. Планира се използването му в следващия експеримент с локално маточно приложение на окситетрациклин за проучване фармакокинетиката на антибиотика и за проследяване на остатъчните му вещества в млякото.

2.3.3. Определяне на потенциала за образуване на биофилм на *Trueperella pyogenes*, изолирани от крави с клиничен метрит

Trueperella pyogenes най-често причинява гнойни пуерперални ендометрити и клинични метрити при крави. При лечението на тези инфекции често се прилага терапия с антибиотици, включително тетрациклини. Целта на проучването беше да се характеризира *in vitro* взаимодействието на окситетрациклин и доксициклин с *Trueperella pyogenes* и потенциала ѝ за образуване на биофилм. Бяха определени минималните потискащи

концентрации (MIC) и метаболитната активност в края теста за биофилм на *Trueperella pyogenes*.

Изводи

Данните показват, че изолатите *Trueperella pyogenes* са чувствителни на Оху tetracycline и Doxytetracycline и нямат потенциал за образуване на биофилм във високи концентрации на антибиотиците, които биха могли да се достигнат след маточното им приложение.

2.4. Влияние на топлинния стрес върху някои репродуктивни показатели при млечни крави в умереноконтинентален климат, Тракийски университет

Топлинния стрес (ТС) е неспецифичен физиологичен отговор на животните към температурата на околната среда когато животните произвеждат повече топлина отколкото могат да отделят (Yang 2014). Понижението на репродуктивните показатели при кравите за мляко в субтропичен и тропичен климат под влияние на ТС е добре проучено. Като се има предвид глобалното затопляне и интензивния генетичен прогрес за висока продуктивност, понижението в репродуктивните показатели е ограничаващ фактор за млечното говедовъдство в предстоящите години (Roth, 2017).

Целта на настоящето изследване е да се определи влиянието на топлинния стрес върху някои репродуктивни показатели при Холщайн-Фризийски крави за мляко при условията на умереноконтинентален климат.

Изводи

На база на проведеното изследване се установява, че топлинния стрес при кравите за мляко в района на централна България започва от късна пролет през месец май и продължава до ранно есен през септември. Най-високите стойности на ТВИ и съответно на топлинен стрес се достигат през лятото – юни, юли и август. Настъпването на топлинен стрес се отразява съществено върху репродуктивните показатели при кравите за мляко. Високите стойности на ТВИ при първо осеменяване влияят негативно върху продължителността на сервис периода и броя осеменявания необходими за заплождане. Най-съществено увеличение на тези показатели се установява когато максималните ТВИ стойности при първо осеменяване са над 90, или с други думи когато по време на първото си осеменяване кравите са били в условия на тежък топлинен стрес. Установява се че когато кравите са били в условия на лек топлинен стрес (ТВИ между 73 и 78) се установява най-висок процент заплодени, както и най-висок процент заплодени от първо осеменяване крави. Това вероятно се дължи на благоприятните условия на околната среда в предходните месеци, както и на провежданото охлаждане във фермата. Натрупания негативен ефект на ТС през месеците май и юни вероятно влияе върху развитието на фоликулите, поради което юли и август има най-нисък процент на заплодени крави. Нарастването на ТВИ води до увеличение в периода между осеменяванията.

3. Биотехнологии за интензификация на репродукцията

3.3.1. Програмиране на репродуктивната кампания чрез използване на алтернативни нехормонални методи за стимулиране и синхронизиране на еструса. Земеделски институт, Стара Загора, ССА

Извършен бе анализ от провеждане на експерименти относно репродуктивна способност на лактиращи крави, третиран с различни биоактивни вещества и добавки.

Нашите резултати са в потвърждение с установеното от други автори относно влиянието на млечността върху междуотелния период. Установена е достоверна разлика между групите, като животните, получавали органична минерална добавка MultiMix имат по-дълъг междуотелен период (39,65 дни), по-висока дневна млечност (4,12 кг), по-високо съотношение мазнини:протеин (0,10). По-високата възраст има отношение към увеличаване на междуотелния период. Ниска положителни са установените корелации между съотношението на мазнини : протеин с всички останали показатели – от 0,116 до 0,166.

Изводи

Слаби, отрицателни корелации са установените такива между признаците МОП и млечността (-0,067), както и между млечността и възрастта на животните – (-0,079).

С най-висока стойност на корелация е тази между МОП и възрастта на животните.

Във връзка с поставените цели и задачи за извършване на анализ на въздействието на различни нехормонални препарати върху репродуктивната способност на кравите и анализ на репродуктивната способност на кравите с висока млечна продуктивност.

За успешно провеждане на експериментите бяха изградени следните научни хипотези:

1. Влияние на търбухови модулатори върху ефективността на метаболизма и преодоляване на стреса в първата третина на лактацията и влияние на ефекта от това върху репродуктивната способност на лактиращикрави.
2. Влияние на третиране на кравите с ваксини против нодуларен дерматит върху репродуктивната способност на лактиращи крави.
3. Влияние на добавяне към дажбите на високотехнологични абсорбатори водещи до детоксикация на организма на лактиращи крави в първата третина от лактацията.

Използването на нанотехнологии може да увеличи значително биологичния ефект от използване на зеолити, като хранителна добавка при храненето на лактиращи крави. Очаквания ефект е детоксикация – намаляване или преодоляване на ефекта от енергийния метаболитен стрес в първата третина на

лактацията – повишаване репродуктивната способност измерена, чрез сервиз периода на експерименталните животни.

3.3.2.Подобряване на репродуктивния потенциал, чрез използване на нехормонални биоактивни добавки през значимите за репродукцията периоди – Разработен е протоколът и е проведен опит с добавка на БАД при биволици след омалачване в биволовъдна ферма на ЗИ- Шумен.

Изводи

Третирането с биодобавка стимулира възстановяване на цикличната активност на оварии при всички 7 опитни животни, което е потвърдено от направените ехографски изследвания в колаборация с колеги от ТУ- Ст. Загора.

Четири от опитните животни са демонстрирали разгоненост и били заскачани от бика, като при две от тях при последващо ехографско изследване е установена бременост.

В контролна група само две животни в рамките на този период са проявили еструс, като едната била покрита от бик и е с установена бременост след ехографски преглед.

4. Разработване на схеми за синхронизация и получаване на ембриони **Институт по животновъдни науки – Костинброд, ССА**

Разработихме програма заедно с колеги от най-голямата станция по изкуствено осеменяване и ембриотрансфер в Германия - BVN – Besamungsverein Neustadt a.d.Aisch за получаване на ембриони *in vitro* от високопродуктивни крави, които се колят по необходимост. Те започнаха прилагането на програмата още през месец ноември, а ние трябваше да ги посетим на първи май 2020 г. за парада на биците и да обсъдим получените резултати. Програмата се състои в следното – при клане по необходимост фермера се обажда в лабораторията по *in vitro* , за да отиде специалист и да вземе яйчниците от кланицата. След обработка на яйчниците, получените яйцеклетки се оплождат *in vitro* със семенна течност от бик по избор на фермера. Получените ембриони се замразяват и съхраняват, а фермера може да ги продава или да се трансплантират на кравите в неговото стадо. В България има фермери, които желаят също да получат телета от собствени високопродуктивни крави, заклани по необходимост и ние се надяваме до месец-два да предлагаме тази услуга в нашата лаборатория по *in vitro* в ИЖН-Костинброд. В рамките на 6 часа съхранявани в специална среда яйчниците могат да пристигнат в лабораторията в ИЖН – Костинброд.

През отчетния период бяха проведени експерименти с цел да се изследва ефекта от добавянето на различни концентрации Insulin-like growth factor I (IGF-I) към средата за култивиране върху развитието на *in vitro* матурирани и оплодени (IVM/IVF) ооцити с използване на серум от крави в еструс. Развитието

на ембрионите бе сравнено с развитието на ембриони, култивирани в среда без протеини за да се отчете ефекта от добавката на серим и IGF-I. Добавянето на IGF-I в TCM 199 без серум и гранулозни клетки бе извършено за да се отчете дали IGF-I действа синергично с естралния серум и директно върху ембрионите или чрез гранулозните клетки.

Изводи

Резултатите от тези експерименти доказват, че развитието *in vitro* на ембрионите се подобрява в присъствие на висока концентрация IGF-I с добавка на естрален серум и гранулозни клетки.

Резултатите от нашите експерименти доказват, че има зависимост между дозата на IGF-I и ембрионалното развитие, след като средата съдържаща 50 ng IGF-I ml⁻¹ доведе до по - нисък процент излюпени бластоцисти на ден 9 в сравнение със средата съдържаща 100 ng IGF-I ml⁻¹.

Резултатите получени при тези изследвания водят до извода, че високи концентрации на екзогенен IGF-I добавен към средата за култивиране в присъствието на гранулозни клетки, серум и ендогенен IGF-I ускоряват развитието на ембрионите.

Механизма чрез който IGF-I оказва митогенен и диференциращ ефект върху *in vitro* култивираните ембриони не е известен. При тези условия за култивиране прилагането на IGF-I във високи концентрации няма негативен ефект, а по скоро подобрява развитието на ембрионите за сравнително дълъг период от време (13 дни).

4.1.Трансфер на ембриони

Общо 20 крави -донори бяха суперовулирани по двете схеми. От суперовулираните с FSH донори 9 крави-донори, получихме общо 48 ембриона, от тях 15 ембриона в стадий морула, 12 ембриона в стадий бластоцист и 7 ембриона в сатадий експандиран бластоцист. Дегенериралите ембриони бяха 8 , а неоплодените яйцеклетки бяха 6 броя. При суперовулираните 11 крави -донори с PMSG получихме общо 46 ембриона, от тях 14 ембриона бяха в стадий морула, 7 ембриона бяха в стадий бластоцист и 5 ембриона бяха в стадий експандиран бластоцист. Получените дегенерирали ембриони бяха 12 и неоплодените яйцеклетки бяха 8 броя. Въпреки по-високата цена на препарата, ние препоръчваме прилагането на схема с FSH, защото резултатите са по-добри и това компенсира разходите.

Работен Пакет 2

1. Селекция, подготовка и получаване на генетичния материал

1.1. Селектиране на мъжки разплодници – проведени експерименти.

1.2. Подготовка на избраните кочове

1.3. Създаване на пунктове за получаване на семенна течност и изкуствено осеменяване.

Беше извършен клиничен преглед на избраните кочове. Организира се изследване за бруцелоза, заразен епидидимит и паразитни заболявания. Провежда се предизвикване на еструс при овце, които ще бъдат използвани за приучване на млади кочове за получаване на семенна течност. Извършен беше преглед на крайниците и подстригване, поставяне на мелатонинови импланти през анестрален сезон. Съвместно с фермерите са създадени оптимални условия за отглеждане на пепиниерите. Избрани са 58 бр. кочове от различните породи, ТУ.

- 1.** Закупени и доставени са необходимите тестове, препарати и консумативи.
- 2.** Проведни са срещи и са сключени споразумения със собственици на нови ферми, където ще се провеждат изследвания (с. Дряново, обл. Ямбол-овце и кочове от породата Шароле, с. Брягово, обл. Пловдив с овце и кочове от Асаф.)
- 3.** Избрани са и са изследвани 67 коча от породите Асаф, Аваси и Лакон.
- 4.** Разработена е методиката на експериментите по ферми и породи.
- 5.** В изследванията с мелатонинови импланти са включени 42 коча от месодайни породи Ил дьо Франс и Шароле.
- 6.** Организиран са 4 нови пункта за получаване и преценка на семенна течност.
- 7.** Поставени са мелатониви импланти на кочовете и овцете съгласно разработената методика на експериментите.
- 8.** Извършена е преценка на семенната течност от заложените в програмата породи кочове през анестрален сезон.
- 9.** Завършени са преценките на семенна течност от кочовете порода Ил дьо Франс.
- 10.** Завършени са експериментите при „теренни условия“ с планираните овце и дзвизки от избраните породи.
- 11.** Изследвано е влиянието на импланти с мелатонин върху качествата на семенната течност при кочовете от месодайните породи.
- 12.** Завършени са повторните експерименти за потвърждаване или отхвърляне на методиката при „теренни условия“ за осеменяване със съхранена 12 и 24 часа при температура +5⁰С.
- 13.** Организирано и проведено е изкуствено осеменяване с преценена, разрежена и охладена семенна течност през анестралния сезон при овце от породата Лакон и Аваси.
- 14.** Подготвен и проведен е семинар с овцевъдите в гр. Тръстеник област Плевен.

- 15.** Завършен е експеримента с породата Ил дьо Франс в с. Калояново. Отчетени са резултатите от биологичния експеримент с ИО с охладена и дълготрайно съхранена сперма през анестрален сезон.
- 16.** Продължават експериментите със семенна течност на кочовете от избраните породи (естрален сезон).

1.Селекция, подготовка и получаване на генетичния материал. Институт по планинско животновъдство и земеделие – Троян, ССА

1.1.Селектиране на мъжки разплодници – проведени експерименти.

Задача 1. Селекция на подходящи донори за получаване на семенна течност чрез ранно определяне на репродуктивния им потенциал.

Задача 2. Получаване, преценка, разреждане, охлаждане, съхранение и транспорт на охладена семенна течност.

Задача 3. Биотехнологии за интензификация на репродукцията

3.1 Оптимизиране на ранната репродукция при кози

Оптимизиране на ранната репродукция при кози от породите ББМ, Англонубийска и Тогенбургска. Проследяване интензитета на растеж и половото развитие на мъжки ярета от три породни групи от раждането до 18м. възраст/

Изследването има за цел да определи характеристиките на пубертета на мъжки ярета от три породи /Българска бяла млечна, Тогенбургска и Англонубийска/. Ще бъдат оценявани следните характеристики на пубертета: тегло при отбиване, интензитет на растеж, възраст на пълно отделяне на пениса от препуциума, диаметър на скротума и др. Освен това ще бъде проучена и връзката между телесното тегло при раждането и телесното тегло в пубертета, обиколката на тестисите и възрастта на пубертета.

Изводи

Установено е, че ранните признаци на пубертета при мъжки ярета от породата Българска бяла млечна се проявяват на възраст 16 седмици и скротален диаметър 19,4 см, при Тогенбургската порода на възраст 18 седмици и скротален диаметър 18,5 см, а при Англонубийската порода - 24 седмици и скротален диаметър 24,38см.

Потвърдена е много силна достоверна положителна зависимост между етапите на освобождаване на пениса, скроталната обиколка, живото тегло и възрастта, и при трите изследвани генотипа.

Проследяването на екстериорните измервания е важен критерий за извършване на подбора на мъжките животни характерни за породата.в млада възраст за разплод

Телесното тегло и размерът на тестисите биха могли да бъдат използвани при селекцията на предпубертетни мъжки ярета.

1.2. Съхранение и транспорт на охладена семенна течност –проведени са експерименти, част от резултатите са представени на научни форуми с доклад и постери и са подготвени за печат.

1.3. Преценка на семенна течност.

Резултатите по тази подзадача са изработени от работния колектив на ИБИР и колеги от Тракийски университет. Направен е CASA на сперматозоиди, HPLC на спермално плазмени протеини, SDS PAGE характеристика на СПП, работи се по протеомика чрез 2D – проведени експерименти и получени първи резултати.

Изводи:

- Получени са нови данни за междувидови, индивидуални различия на мотилитет, скоростни параметри и head area на сперматозоидите от три породи кочове - млечна, месодайна, тънкорунна, на база компютърен спермоанализ.
- Получени са нови данни за идентификация на специфични семинално плазмени протеини като предиктори за качество на спермата и висок репродуктивен потенциал на донори, на база хроматография и протеомика на спермално плазмени протеини –CASA, HPLC, SDS PAGE;
- Направени са CASA анализи на всички еякулати, изследвани са промени в мембранния интегритет чрез оветяване с еозин/нигрозин. Специален акцент беше сложен върху изследване на спермално-плазмени протеини чрез HPLC анализ и SDS PAGE характеристика на тези протеини. Получените резултати позволиха натрупване на нови бази данни за индивидуални, възрастови и междупородни различия на мотилитет и скоростни параметри, както и състава на СПП при млечни, месодайни и тънкорунни породи овце.

1.3 Изпитване на БАД върху виталитета на сперматозоиди от кочове – проведени експерименти съвместно с изследователи от ИБИР, БАН и ТУ.

Направено е първично проучване за влияние на натурален антиоксидант полифенол орегонин в различни концентрации върху виталитета и морфология на сперматозоиди от коч при съхранение на 37°C от получаване до 6-я час. Резултатите показаха позитивен ефект на добавката върху мотилитета на сперматозоиди и запазване на мембранния интегритет. Броя на сперматозоиди с морфологични нарушения не се различаваха между опитната и контролната групи. Беше установено, че най-добрия ефект оказват дозите на орегонин от 100 до 500 µM.

Резултати

Съвместно с колеги от ПІ - ТУ са проведени изследвания за усъвършенстване на биотехнология за съхранение на семенна течност от коч при 0-5°C с модифициран трис-разредител и комерсиален разредител триладил с добавка на натурален антиоксидант – орегонин в дози 100 и 500 µM:

- извършен е анализ на промени в мембранния интегритет и морфологията на сперматозоиди от кочове;
- направена е статистическа обработка на данните от CASA и биохимичен анализатор;

- адаптиран и приложен протокол за изследване на промени в митохондрии на сперматозоиди.

При добавяне на орегонин към разреждателите сперматозоидите запазват добра жизненост и подвижност до 48 час. Също така, се подобряват техните кинематични параметри, като средна криволинейната скорост и скоростта на бързите сперматозоиди. Няма нарушения в интегритета на мембраната и достоверни промени в активността на основните ензими – алкална фосфотаза и лактатдехидрогеназа.

Резултати

Данните относно изпитване на разреждател триладил с орегонин са представени като постер на Годишната конференция на Европейската общност по репродукция при домашни животни /ЕСДАР/, абстрактът е отпечатан в списание *Reproduction of domestic animals*, което се индексира в Скопус – Приложение с доказателствен материал.

2. Технологични аспекти за репродукция

2.1.1. Изпитване на протоколи за синхронизация на еструса и фиксирано време за изкуствено осеменяване със свежа семенна течност в анестрален период при овце на различни породи. Земеделски институт - Стара Загора, ССА

Изпитване на протоколи за синхронизация на еструса с фиксирано време за изкуствено осеменяване със свежа семенна течност в анестрален и естрален период и изпитване влиянието на различни естествени растителни добавки за повишаване половата активност при кочове.

За целта през отчетния период са сформирани групи от опитни животни за изпитване на комбинирана схема с използване на импланти с мелатонин и вагинални тампони / производство на Сева – Франция/ в естрален и анестрален сезон при 4 породи от различни продуктивни направления – млечно, месодайно и тънкорунно.

Получени резултати:

Заплодяемост – от 60 до 91%

Плодовитост – от 162 до 191%

2.1.2. Изпитване на протоколи за синхронизация на еструса с фиксирано време за изкуствено осеменяване с охладена семенна течност в анестрален и естрален период. Земеделски институт - Стара Загора, ССА

Ултрасонографията е сравнително опростена, надеждна и неинвазивна образна техника без вторични ефекти. Приложението на ултрасонографията в

практиката и по-специално при дребните преживни животни е най-ефективното диагностично средство за управление на репродукцията. Транс-абдоминалното изследване на овце дава възможност за много ефективно и точно средство за откриване на бременност. По този начин се осигурява, по-добро управление на всички процеси във овцевъдното стопанство, а от там и по-високата производителност и рентабилност на фермата. Времето, за което се извършва до голяма степен зависи от опита на специалистите, които го извършват и ефективността на системата за отглеждане и менажиране на дадената ферма. Скоростта и точността се постигат и чрез използване на правилния лубрикант (ултразвуков гел), който се нанася върху сондата, за да се осигури контакт с кожата без въздух, улесняващ предаването на звуковите вълни.

Ултразвуковата технология може да се приложи като инструмент за подобряване на репродуктивното управление на дребните преживни животни при разнообразен набор от производствени системи, полуинтензивни, интензивни и дори екстензивни независимо от насоката на производство – мляко или месо. Ултразвуковото изследване се оказва евтин и точен метод за определяне на състоянието на бременността, етапа на бременността и размера на агнилото. Чрез групиране на животните според състоянието на бременност и размера на агнилото могат да се увеличат - ефективността на производството да се подобри разпределението на ресурсите във фермата и да се подобри здравословното състояние на стадото.

2.1.1. Изпитване на протоколи за синхронизация на еструса с фиксирано време за изкуствено осеменяване с охладена семенна течност в анестрален и естрален период. Институт по животновъдни науки – Костинброд

Проведен е експеримент за синхронизиране на еструса при дзвиски от породата Лакон в частна ферма в с. Завала, общ. Брезник.

Целта на настоящото проучване е да се индуцира синхронен еструс чрез 5-дневно прогестагеново третиране с или без СЖК при овце 12 месечна възраст от породата Лакон.

Изводи

Протоколът, който се състои от 5-дневно прогестагеново третиране със синтетичен аналог на PGF 2 α , поставен по време на поставянето на тампоните и СЖК по време на отстраняването на тампоните, успешно синхронизира еструса с високи нива на заплодяемост и плодовитост. Протоколите, които се състоят от 5-дневно прогестагеново третиране плюс синтетичен аналог на PGF 2 α , инжектиран по време на поставянето на тампоните или при отстраняването на им, но без СЖК, не са подходящи за синхронизация на еструса, поради получените незадоволителни резултати.

2.1.2. Синхронизация на еструс и заплодяемост при овце след кратки прогестагенови третираня и различни дози СЖК

В Европа най-често срещаният хормонален метод за синхронизация на еструса на дребните преживни животни е с интравагинални тампони, импрегнирани с прогестаген (флурогестон ацетат FGA или медроксипрогестерон ацетат MGA) (Danko, 2003; Menchaca и Rubianes, 2004; Abecia et al., 2011). Използвани са различни протоколи за синхронизация на еструса с интравагинални тампони, според продължителността на престоя на тампона във влагалището.

Целта на настоящото изследване е да се оцени степента на синхронизация на еструса и заплодяемостта при овце след различни кратки прогестагенови третирания и различни дози СЖК.

Степента на синхронизация на еструс (CSE) за всички групи варира между 83,33% до 100% . Групите, третирани с 500 UI PMSG (Група 2 и Група 4), имат по-високи стойности на CSE в сравнение с групите с 400 UI - 100%, но разликите не са статистически достоверни.

3. Биотехнологии за интензификация на репродукцията

3.1. Програмиране на репродуктивната кампания. Тракийски университет

3.1.1. Сравнително проучване на плазмените концентрации на фибриноген и церулоплазмин през бременността и следродилния период при Български местни кози

Остро-фазовите протеини (ОФП) се считат за неспецифични фактори на имунитета и промяната в концентрацията им е реакцията на животните към смущения в хомеостазата (Murata et al., 2004). Тези протеини включват протеазни инхибитори (алфа 1 антитрипсин, алфа 1 антихимотрипсин), коагулационни протеини (фибриноген, протромбин), комплементни протеини (C2, C3, C4, C5 и др.), транспортни протеини (хаптоглобин, церулоплазмин, хемопексин) и някои други видове протеини, като С-реактивен протеин, серумен амилоид А, серумен амилоид Р, кисел глюкопротеин и т.н. (Pradeep, 2014).

Целта на проучването беше да установим плазмените нива на фибриногена и церулоплазмина през отделните етапи от бременността и следродилния период при Български местни кози.

Изводи

В заключение, цялостният анализ на резултатите показва, че плазмените концентрации на фибриноген и церулоплазмин се покачват през първата третина на бременността и непосредствено преди раждането. През следродилния период се наблюдава достоверно понижаване на техните средни стойности след 20-ия ден от раждането. Получените стойности на проучваните остро-фазови протеини биха могли да се използват за сравнение, в случаи на патологични състояния през бременността и следродилния период при кози.

3.1.2. Приложение на трансвагиналната ехография за определяне на броя на плодовете при Българска млечна коза

Ултразвуковото изследване предоставя възможност за проследяване и контрол на репродуктивния статус при дребните преживни животни (Scott, 2012). Използването на тази технология е от решаващо значение за съвременната наука, а фактът, че ултразвуковата диагностика е рутинен и модерен компонент в репродуктивния мениджмънт на животните, прави методът неразделима част от съвременните репродуктивни технологии (King, 2006; Medan and Abd El-Aty, 2010).

Целта на настоящото проучване беше да определим точността на трансвагиналната ултрасонография за определяне броя на плодовете при кози от породата Българска бяла млечна.

Изводи

В заключение, анализът на получените от нас резултати показва, че трансвагиналната ултрасонография може да се използва с успех за определяне броя на плодовете при кози. Най-подходящият период за правилна диагноза е 45-ти ден след покриване или изкуствено осеменяване.

3.1.3. ДОПЛЕР УЛТРАЗВУКОВИ ИЗМЕРВАНИЯ НА СКОРОСТТА НА КРЪВНИЯ ПОТОК ВЪВ ФЕТАЛНОТО СЪРЦЕ И АОРТА ПРИ КОЗИ

Ултрасонографията е неинвазивен, бързо осъществим и точен метод за диагностика на ранна бременност (Yotov, 2020), проследяване на ембрио-феталното развитие (Bartlewski et al., 2000), определяне на броя и пола на плодовете (Santos et al., 2007; Karen et al., 2009), регистриране на промените в половите органи (Atanasov et al., 2012) и млечната жлеза (Fasulkov et al., 2018) при преживните животни.

Целта на настоящото проучване беше да определим показателите, характеризиращи скоростта на кръвния поток във феталното сърце и аорта при кози чрез Доплер ултрасонография.

Изводи

В заключение, цялостният анализ на резултатите показва, че употребата на Доплер ултрасонография може да се използва за проследяване на промените в кръвния поток на фетуса през отделните стадии на бременността. Получените стойности на показателите, характеризиращи кръвния поток във феталното сърце и аорта могат да се използват като база за сравнение в случаи на аномалии в кръвоснабдяването на фетуса при кози.

3.2 Стимулиране процесите на сперматогенеза и овогенеза при половозрели животни.

3.3. Програмиране на репродуктивната кампания чрез подобряване на схеми за синхронизиране на еструса с БАД. Тракийски университет, ИБИР, БАН

Опитът по първата дейност е проведен по време на случната кампания, в овцеферма собственост на фирма “Елитагро“ ООД.

В заключение, може да се твърди, че даването БАД като хранителна добавка при кочове използвани за разплод има няколко положителни ефекта:

1. Активизира проявите сексуалността в поведението на разплодните кочове и олеснява получаването на еякулати.
2. Оказва ефект върху спермопродукцията чрез повишаване на обема на еякулатите и на подвижността на сперматозоидите.
3. При овце осеменени чрез ИО от кочове, приемали БАД има данни за понижаване на проявени аборти.
4. Повишава се процента на заплодяемостта на овцете, отчетена спрямо ражданията на агнета, в сравнение с ражданията при овцете, които са осеменени чрез ИО с еякулати от неретирани кочове.
5. Методът на ИО доказва ефективността си, спрямо естественото оплождане при овце.

4. Епигенетиката като иновация при решаване на проблеми в репродуктивния процес

4.1. Епигенетични промени (ДНК метилиране) в сперматозоиди от различни животински видове. Институт по Биология и Имунология на репродукцията

Цел – да се проследи изменението в генната експресия на сперматозоиди при различни условия на въздействие – добавка или възрастово различие; Получени бяха свежи еякулати от кочове от базите при ТУ и от ЗИ-Шумен. Отделена бе спермалната плазма чрез центрофугиране. Същата бе разделена за биохимичен анализ (x 150 µl) на алкална фосфатаза и на лактатдехидрогеназа. Разработени са постъпкови протоколи за изолиране на РНК, както и на ДНК от сперматозоидите от коч, позовавайки се на литературни източници, изпитани протоколи и изпитвани методологии при други клетки.

Получени са спесимени със сперма от кочове – три породи и коне – две породи. Изолирана е тотална ДНК с помощта на кит с афинитетни ДНК силикагелни колони, измерена е ДНК, като са измерени количествата с Invitrogen Qubit v1, и са разредени където бе необходимо до количество от 80-100 нг/ямка. ДНК се денатурира до едно-верижна по протокол и се прикачва химически към ямките на плаката.

Приготвени бяха и разтвори с падащи разреждания на позитивна контрола от тотално метилирана ДНК, смесена с тотално деметилирана ДНК, в различни съотношения, и бе изготвена калибровъчна крива.

Резултатите при кочове имаха много голяма хетерогенност, като имаше и проби с много ниска степен на метилиране на тотална ДНК, показващо лош епигенетичен статус на спермата на индивида донор.

От изследваните проби от коне, поне 50% от тоталната ДНК бе метилирана при част от изследваните проби.

От направените изследвания може да се заключи, че предложеният метод е универсален и би могъл да се прилага в предварителния скрийнинг на сперма на донори от разплодници. От друга страна, за да се изгради референтна основа за обхвата на метилиране при различните изследвани видове, се изисква много по-голям брой референтни проби от „добри“ разплодници, като броят трябва да се увеличи както за разплодниците, така и за пробите от всеки един от тях.

4.1. Определяне на нивата на mRNA транскрипти на ген PRM1 в сперматозоидите като генетичен маркер за качеството на сперма

Генът PRM1 кодира белтък протамин 1. Това е основният ядрен протеин в сперматозоидите, който играе важна роля за нормална морфология и функция на зрелите мъжки гамети. Основната му функция свързана с компактно опаковане на ДНК, обезпечаващо безопасен пренос на наследственния материал към ооцита. Относителното ниво на PRM1 транскриптите в сперматазиди беше анализирано трикратно чрез RT-PCR, като се използваша специфични праймери за таргетния PRM1 и референтния ген- GAPDH. Нивата на PRM1 транскрипти в сперматозоидите варират в широки граници между отделни кочове и не зависят от възрастта. Кочове от една генеалогична линия имат близки стойности на този параметър. Установена е корелационна зависимост между нивата на mRNA на PRM1 и основните параметри на спермата като подвижност и преживяемост. Тези резултати позволяват да се предположи, че нивото на PRM1 транскрипти в сперматозоидите може да служи като маркер за окачествяване на сперма от коч.

4.2. Определяне на нивата на метилиране на ген SIRT1 в сперматозоидите като епигенетичен прогностичен маркер за оплодителните качества на сперма.

Генът SIRT1 принадлежи към класа на NAD-зависими хистонов деацетилази и участва в широк спектър от физиологични функции, включително в сперматогенеза. Потискането на ген на SIRT1 отслабва сперматогенезата, нарушава морфологията на сперматозоидите и биогенезата на акрозомите и води до мъжки стерилитет. Изолираната ДНК от сперматозоиди на кочове беше третирана с натриев бисулфит. Нивото на метилиране на SIRT1 беше определено чрез метилационно-специфичен ПСР, с използване на два комплекта праймери, специално конструирани за да се свързват с метилирани и неметилирани участъци на бисулфитно конвертираната ДНК.

Въз основа на резултатите от агненето кочовете бяха разделени според тяхната плодовитост и репродуктивните параметри на два класа – с висока

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

оплодителна способност и с ниска. Получените данни показаха достоверна корелация между метилирането на SIRT1 и заплодяемостта. ДНК метилирането на SIRT1 при сперматозоиди от високоплодни кочове е значително по-високо, отколкото при нископлодни кочове.

Получените данни позволяват да се предположи, че анализът на метилационен статус на гена SIRT1 в сперматозоиди, може да послужи като прогностичен маркер за оплодителната способност на сперма от коч.

Работен Пакет 3

1. Разработване на биотехнологии за криоконсервиране на генетичен материал

1.1. Селектиране на мъжки разплодници

1.2. Преценка на семенната течност - CASA на сперматозоиди, HPLC на спермално плазмени протеини, SDS PAGE характеристика и 2D на СПП

Резултати

Computer-assisted sperm analysis – CASA е направен еякулати на две породи коне - Холщайнер (n=4) и Източно Българска порода (n=4) за установяване на връзката между индивидуални или породни особености, кинематични параметри, площ на главичката на сперматозоидите и връзката със специфични протеини в СП. Анализът се извършва на минимум 5 полета с по 1000 сперматозоида, като анализът отнема няколко секунди. Параметрите на CASA, оценени в това проучване, са: концентрация на сперматозоидите ($\times 10^6 / \text{ml}$); Подвижност и прогресивно движение на сперматозоидите (%) (статични, прогресивни и непрогресивни); Скорост на движение на сперматозоидите (%) (бърза, средна и бавна скорост); Площ на главата (μm^2) - (общо и при отделни популации на сперматозоиди - статични, бавни, средни и бързи); Кинематични параметри (общо и при отделни популации на сперматозоиди - статични, бавни, средни и бързи): VCL - криволинейна скорост ($\mu\text{m} / \text{s}$) - средна скорост, отчетена по главичката на сперматозоидите по действително изминатия път, VSL - скорост на права линия ($\mu\text{m} / \text{s}$) - скоростта по права линия, свързваща началната точка и крайната точка на изминатия път; VAP - средна скорост на движение ($\mu\text{m} / \text{s}$) - средната скорост на главичката на сперматозоида в усреднена траектория; LIN - линейност (%), като $\text{LIN} = (\text{VSL} / \text{VCL}) \times 100$; STR - праволинейност (%), като $\text{STR} = (\text{VSL} / \text{VAP}) \times 100$; WOB - колебание (%) - трептене; $\text{WOB} = (\text{VAP} / \text{VCL}) \times 100$; ALH (μm) - амплитудата на страничната промяна на главичката на сперматозоида (обикновено и в популациите на умерено прогресиращи и бързо прогресиращи сперматозоиди); BCF - бит / кръстосана честота (Hz) - честота, с която главичката на сперматозоида пресича средната равнина на изправената траектория (обикновено в популациите на умерено прогресиращи и бързо прогресиращи сперматозоиди).

Изводи

Настоящите проучвания са установили различия в протеиновия профил на спермалта плазма при две породи коне - Холщайнер и Източна България, които са индивидуални и специфични за породата. Тези различия не се отразяват върху основните параметри на сперматозоидите като обем, концентрация на сперматозоидите, количественото протеиново съдържание на СП, подвижност и кинематични параметри. Специфичен морфометричен маркер за породата е площта на главата на сперматозоидите, стойностите за бързи сперматозоиди при Източно Българска порода кон и порода Холщайнер са съответно $28,1 \pm 0,2 \mu\text{m}^2$ и $19,9 \pm 0,3 \mu\text{m}^2$.

2. Разреждане и замразяване на семенна течност.

2.1. Съхранение и транспорт на охладена и замразена семенна течност.

Институт по животновъдни науки – Костинброд, ССА

Изкуствено осеменяване на коне се прилага от началото на 20 век, като първото конче от замразен семенен материал се ражда през 1968 год. През последните десетилетия са направени значителни подобрения в средите и методите, но все още степента на заплождане е ниска и се влияе от някои фактори.

Добавянето на антиоксиданти към замразяващата среда би било начин за подобряване жизнеспособността на сперматозоидите и следователно, способността за оплождане. При криоконсервацията на сперматозоидите витамин Е се използва като антиоксидант за минимизиране на негативните ефекти на реактивните форми на кислород и по този начин за поддържане на подвижността на сперматозоидите. При овце е отчетено подобряване на качеството на криоконсервирани ембриони на витамин Е към хранителната среда. По-доброто качество може да се обясни с по-малък брой апоптотични клетки в културната среда, когато се добави витамин Е.

При прилагане на препарата *Vitamed E liquid*, животните бяха в много добра телесна и разплодна кондиция и ние можем да предложим прилагането на препарати съдържащи витамин Е като подобряващо концепцията средство.

Нестероидните противовъзпалителни лекарства (НСПВС) произхождат от екстрактите на салицилатосъдържащи растения, първоначално описани в древноримската и гръцката литература. По-специално, екстрактите от върба са били известни със своите антипиретични, аналгетични, и противовъзпалителни свойства. Резултатите са много добри. Включените пет животни от опитната група впоследствие бяха с установена бременност.

ПРИЛОЖЕНИЕ НА МАШИННО ОБУЧЕНИЕ ЗА ОЦЕНКА КАЧЕСТВОТО НА СПЕРМА ОТ КОНЕ. Институт по биология и имунология на размножаването, БАН

В това изследване ние приложихме няколко различни методи на машинно обучение, при които извадка от данните се подава към класификатор за обучение, в случая параметрите от CASA метода, в съчетание с параметри от ензимна активност в семинална плазма – воден и Тритон X100 екстракти от сперматозоиди, параметри от морфологичен анализ и виталитет на клетките и пр., като сме въвели параметър за добро качество на гаметите. Данните са от свежа сперма, както и от такава замразена в различни среди за криопротекция, с различни добавки за подпомагане на протекцията, и в следствие замразена и оценена с CASA, ензимна активност, параметри за виталитет и морфологичен анализ. Класификаторът се обучава с част от данните и в следствие при

подаване на данни без оценка за качество трябва да предложи такава, т.е. с каква вероятност спермата е с добро качество.

Класификаторът Random forest, позволява да предскажем с най-голяма точност кои ензимни активности корелират с тоталния мотилитет и другите параметри по отношение на качеството.

Изводи

Класификаторите са много ценен инструмент, защото веднъж обучени, при подадени параметри с неизвестно качество, те могат да предскажат с голяма достоверност този параметър, по данните от другите параметри – CASA, ензимна активност. Един не автоматичен подход би бил добавянето на точки към вероятността за добро качество с използването на класификатора Naïve Bayes.

3. Технологични аспекти за репродукция

Институт по животновъдни науки – Костинброд, ССА

Прогестерона и прогестините са прилагани интензивно при контрол на еструса при говедата, овце и свине. Ежедневно интрамускулно инжектиране на прогестерон за контрол на еструса и овулацията на кобилите дава променливи резултати. Има съобщения за успешно прилагане на комбинация от прогестерон-PGF2 α -HCG за синхронизация и подобряване на заплодяемостта при кобили. Ежедневни инжекции или поставяне на прогестинови импланти са непрактични средства за прилагане на прогестини при коне.

Целта на нашите проучвания беше да се прецени ефекта на алил тренболон върху: а) индукция на еструс при анестрални кобили, б) контрол на естралния период в началото на размножителния сезон, и в) ефективността на това съединение за естрален контрол, при използване в комбинация с изкуствена светлина.

Извода е , че колкото по-рано кобилата покаже първите признаци на еструс след началото на януари, толкова по – дълъг е рецептивният период. Размерът на най-големия фоликул на ден 1 от първият овулаторен еструс е отрицателно корелиран с продължителността на този еструс ($r = -.82$ и $r = -.95$) за третиранни и контролни кобили, съответно). Тези констатации са направени и от други автори.

Продължителността на еструса след третирането и интервал от първия ден на еструса до овулацията е подобна ($P > .05$) при всички групи кобили. Инжекция от 3300 IU от HCG беше неефективна за съкращаване на продължителността на еструса след третирането при кобили третиранни с алил тренболон по време на диеструс, защото шест от 15 кобили са имали овулация преди HCG третирането.

За да се направят изводи и препоръки по отношение на оптималното време за осеменяване след третиране с прогестини са необходими допълнителни експерименти, използващи по-голям брой кобили.

От предишните експерименти стигнахме до извода, че третирането на кобили само с алил тренболон е неефективно за индукция на овулаторен еструс.

За да се тества влиянието на продължителността на светлата част на деня всички кобили които участваха в експеримента бяха изложени на 16-часов фотопериод от началото на декември. Всички кобили бяха изложени аГРА на изкуствена светлина, тъй като от други автори е докладвано, че 16 часа фотопериод е ефективен при индукция на еструс при анестрални кобили.

3.1.2. Влияние на нехормонална хранителна добавка върху хематологични и биохимични показатели на кръвта и репродуктивния статус на кобили. Аграрен университет, Пловдив

Проучено е влиянието на хранителната добавка Equi Vita Forte (EVF) върху хематологичните и биохимични показатели на кръвта, както и върху репродуктивния статус на кобили от породата Чистокръвна арабска (n=8) и Източнобългарска (n=12).

Опитът е проведен в ДП „Кабиюк“, край гр. Шумен, с коне от породите Чистокръвна арабска (ЧАрП) и Източнобългарска (ИБП). В двете породи бяха обособени 2 групи – по 4 кобили в група (общо 8) от ЧАрП и по 6 кобили в група (общо 12) от ИБП, които бяха изравнени по метода на анализите – по възраст, телесни измервания, репродуктивен и здравен статус.

Изводи

Добавянето на EVF към дажбата на кобили е довело до достоверно намаляване на Лактатдехидрогеназата ($P<0.05$), Креатинина ($P<0.05$), както и нивата на TBL и RDW. Достоверно са нараснали обемът на еритроцитите ($P<0.05$), съдържанието на хемоглобина ($P<0.05$) и броят на тромбоцитите ($P<0.05$) в кръвта.

Добавянето на „Equi Vita Forte“ към дажбата на кобилите, оказва достоверно породно специфично влияние върху продължителността на еструса, като при кобилите от породата ИПБ, получавали добавката, той е бил с 1.87 дни (66%) по- кратък. Налице е тенденция за скъсяване на половия цикъл (до 2 дни) и увеличаване на размера на доминантните фоликули при кобилите, получавали добавката.

Източнобългарската и Чистокръвната арабска породи достоверно ($P<0.05$) се различават по размера на граафовия фоликул, като при първата той е по- голям средно с 2.05 - 2.87 mm.

4. Технологични аспекти за репродукция при магарици Тракийски университет

През отчетния период се провежда проучване с цел проследяване ефекта от третирането на Български местни магарици с два вида синтетични простагландини (PGF₂α) аналози. Изследването беше стартирано последователно в зависимост от постъпването на магариците в клиниката в периода от м. март до м. юли 2019 г. и продължава през първата половина на

2020 г. В предходния отчетен период бяха оповестени резултатите от прилагането на синтетичен простагландинов аналог – cloprostenol. В настоящия отчетен период продължава проучването на нови два простагландинови аналози, с активна субстанция съответно dinoprost и alfaprostol.

Изводи

В заключение нашите резултати показаха, че естественият аналог на PGF₂ α - dinoprost може да се използва успешно за индуциране на еструс и овулация при Български местни магарници през размножителен сезон. Този препарат предизвиква ефективна лутеализа, съпроводена с достоверно понижаване на серумните P₄ концентрации. Предварителните данни от проучването сочат, че цветната Доплерова ехография е надежден метод за отчитане ефекта от третиране с простагландини.

5. Епигенетиката като иновация при решаване на проблеми в репродуктивния процес.

5.1. Епигенетични промени (ДНК метилиране) в сперматозоиди от различни животински видове.

Стратегията за оценка на потенциала за използване на материал от семенна течност добита от коне (разплодници) е свързана с установен при редица бозайници и човека феномен на модифициране на ДНК метилирането в компактизираните клетъчни ядра на сперматозоидите при преминаването им през различни региони на репродуктивния тракт, както и с феномените на „изтриване“ на епигенетичните маркери, какъвто е метилирането на нуклеотида цитозин веднага след сливане на гаметите и формирането на зигота. Наличието на промени в очаваната „биологична програма“, промените в състоянието на хипер-метилиране на ДНК на гаметите, както и състоянието на ДНК метилирането на ДНК на гаметите при влизането им в процеса на оплождане може да има ключово значение за формирането и жизнеспособността, и развитието на бъдещия ембрион.

Изводи

За успешното оплождане и развитие на ембрионите е нужно определено ниво на ДНК метилиране на хаплоидните геноми на гаметите преди оплождането, пълното им деметилиране по време на формиране и малко след формиране на зиготата и новото им хиперметилиране по време на ембрионалното развитие. При липса на правилно протичане на програмата за епигенетична регулация (чрез ДНК хиперметилиране) на експресията на редица гени, процесът на ембрионално развитие може да бъде сериозно нарушен. Поради тази причина, и поради наличието на редица фактори оказващи влияние в/у ДНК метилирането на геномите на гаметите изследването само на морфологични параметри, както и само на функционална активност е неефективно. Прилагането на изследване на глобално ДНК метилиране с ELISA метод е първа стъпка в разработването на панел от маркери за селекция на проби

с добър потенциал за последващо използване в репродуктивния процес. За да увеличим нивото на специфичност на оценката е етап 2 от проекта ще проведем по-високо ниво на анализ – директно секвениране на цял геном на гамети от различни проби, получени от свеж и замразен материал. Използваната технология от 3-то новогенерационно поколение е не само ценово оптимизирана, но позволява и директната оценка на ДНК метилирането без междинни биохимични трансформации на ДНК, изисквани от предишни версии на метода. Целта е да селектираме гени с висока предиктивност за качество на цялата проба въз основа на динамиката им на ДНК метилиране и корелацията и с параметрите за виталност.

Приложение на методи за машинно обучение при комплексен анализ на морфометрия (CASA), колориметричен виталитет, ензимна активност на три вида екстракти и тотално ДНК метилиране (ELISA). Институт по Биология и Имунология на Размножаването, БАН

Изследването на качеството на гаметите при процеса на контролирано размножаване на патоци може да претърпи значително подобрене с приложението на комплексен панел от маркери, чиято оценка не винаги е еднозначна, когато са разглеждани по отделно от човек-експерт, но могат да послужат за предикция с висока точност и специфичност при използването на методи за несупервизирано класифициране, чрез машинно обучение.

В настоящото проучване тествахме модели на обучение от невронна мрежа и от методът Random forest. Невронната мрежа имаше следните параметри - Model parameters: Hidden layers: 100, Activation: ReLu, Solver: Adam, Alpha: 0.0001, Max iterations: 200, Replicable training: True. Използани бяха първоначално всички, а в последствие редуциран брой параметри с цел оценка на най-важните параметри нужни за обучение и класификация.

Данните ясно показват само няколко параметъра с по-добро разминаване на медианите и средните стойности. При различните итерации с трениране на невронната мрежа стана ясно, че метилирането на ДНК и ензимната активност са важни параметри, без които тренирането не даваше точни резултати и имаше 2-3 пропуснати случая, класифицирани от мрежата като лоши или добри, при оригинална класификация обратна на предсказаната. Всичко това показва приложимостта на невронната мрежа за оценка на индивидуалните проби получени за замразяване на сперма от патоци.

Аналогично бе трениран модел на Random forest. Това е йерархичен тип дърво на решенията, който има висока точност и специфичност. Представяме модела с редуциран брой параметри необходими за обучение, които все още дават точно предсказване.

Демонстрираните модели показват два подхода – изведени машинно правила (Random forest) и критерии и вътрешно натрупване на „знание“ (промяна в

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

теглата на възлите в невронната мрежа), които могат по автоматичен начин да класифицират данните от непознати проби с гамети, след като веднъж са били обучени за това. Следваща стъпка е обучението с данни получени от гаметите и от крайния резултат от оплождането със същия материал.

VI. Дейности и измерими резултати от изпълнението на ННПрограмата РЕПРОБИОТЕХ и показатели за измерване ефективността на експлоатацията на изследванията.

Показател 1.

Разработени репродуктивни биотехнологии и включени в технологично решение по работен пакет 1, 2 и 3, ТУ, ИБИР

Разработено и предложено технологично решение: за съхранение на сперма от коч при 5°C/ РП 2/ с биоактивна добавка орегонин, РП 2, ИБИР

Предложен генетичен маркер за характеризиране на сперма при кочове (количество на мРНК транскрипти на ген протамин 1 - Prm1), РП 2, ИБИР, ТУ, ССА

Предложен епигенетичен прогностичен маркер за оплодителна способност на сперма при кочове (процент метилиране на ген сиртуин 1-Sirt1), РП 2, ИБИР, ССА, ТУ

Разработено технологично решение ресинхронизиране на еструса и овулацията с ранна диагностика на бременност при млечни крави, РП 1, ТУ

Разработена е репродуктивна биотехнология „Ембриотрансфер при говеда“, ССА

Разработена е методика за приложение на репродуктивна биотехнология за „In vitro получаване на ембриони от високопродуктивни крави, заклани по необходимост“, ССА

Разработена е репродуктивна биотехнология „Ембриотрансфер при коне“, ССА

Показател 2.

Сключени седем договори с говедовъдни и овцевъдни ферми, сдружения, асоциации, ТУ

Проведен семинар с участието на овцевъди от област Бургас, януари 2020. ТУ.

Сключени договори с партньорски организации по работен пакет 3, ИБИР

Проведен е семинар с овцевъдите в гр. Тръстеник област Плевен, 2020, ТУ

Проведени три индивидуални курсове за след дипломна специализация по подготовка на специалисти по репродукция в овцевъдството, ТУ

Съвместно с асоциираните партньори – Асоциация за равъждане на млечни породи кози, фирма Екомилк ЕООД и фермери козевъди беше поведена работна среща

ИЖН-Костинброд - Сключени договори – за съвместна дейност, за извършване на услуга и граждански договори

ИПЖЗ- Троян – сключени договори за съвместна дейност за представяне на научните резултати по програмата - козеферма с. Богутево, ИПЖ, Троян, ССА

Разработени са БРОШУРИ

По РП1 – „ЕМБРИОТРАНСФЕР ПРИ ГОВЕДА“

По РП2 – „ИЗКУСТВЕНО ОСЕМЕНЯВАНЕ ПРИ ОВЦЕ“

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

По РПЗ – „ЕМБРИОТРАНСФЕР ПРИ КОНЕ“

Земеделски институт, Стара Загора

По РП1 – „ПОЗИТИВНИ ПРОКТИКИ В ГОВЕДОВЪДСТВОТО“

По РП2 – „УПРАВЛЕНИЕ НА РЕПРОДУКТИВНИЯ ПРОЦЕС В ОВЦЕВЪДСТВОТО“

Институт по планинско животновъдство и земеделие, Троян

По РП2 – „РЕПРОДУКЦИЯ ПРИ КОЗИ“

Земеделски институт, Шумен, Тракийски университет

По РП1 – „РЕПРОДУКТИВНИ ОСОБЕНОСТИ НА БИВОЛА, СВЪРЗАНИ С ЕФЕКТИВНОСТТА НА ОТГЛЕЖДАНЕ“

За представяне на ННП „Репробийотех“ пред специалисти и фермери, ветеринарни лекари, асоциации, НПО и други.

Институт по животновъдни науки, Костинброд

В работните колективи са привлечени шест докторанти – двама от ТУ и четири от ССА.

Включени са осем студенти от специалността „Ветеринарна медицина“ и двама студенти от специалността „Зооинженерство“

Привлечен за участие в проекта ученик Н. Георгиев от СМГ-София, който спечели първа награда в конкурса „Млади таланти“ с проект по тематиката на ННП РЕПРОБИОТЕХ, ИБИР.

Показател 3.

Договори за трансфер на знания.

Сключени са договори с асоциациите по говедовъдство, овцевъдство и козевъдство, както и с животновъдни ферми. На партньорите са предоставени получените резултати и материали по прилагане на репродуктивните биотехнологии в ежедневната им дейност. По тези договори не се предвижда финансиране.

Показател 4.

Проведени семинари по прилагане на биотехнологични методи за контрол на репродукцията при млечни породи овце, ТУ

Проведен е семинар с овцевъди от Югоизточна България на тема: „Възможности за интензификация на репродуктивния процес в овцевъдството“, ЗИ, Стара Загора, ССА

Проведен семинар съвместно с НССЗ и ТУ

Отпечатани три броя наръчници за едри преживни, дребни преживни и еднокопитни животни

	Заглавие	Авторски колектив
1	Справочник по прилагане на репродуктивни биотехнологии при едри преживни животни	Тракийски университет: проф. д-р Наско Василев, проф. д-р Анелия Миланова, проф. д-р Юрий Митев, проф. д-р Чонка Митева, доц.

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

		<p>д-р Георги Бонев, доц. д-р Тончо Пенев, доц. д-р Николина Русинова, гл. ас. д-р Иван Фасулков, гл. ас. д-р Манол Карадаев, ас. Росица Милева, гл. ас. д-р Димо Димов, докторант Цветелина Петкова.</p> <p>Селскостопанска Академия, Институт по животновъдни науки, Костинброд: доц. д-р Янчо Тодоров, доц. д-р Таня Тодорова, докторант Цветелина Тодорова.</p> <p>Селскостопанска Академия, Земеделски институт, Шумен: доц. д-р Йорданка Илиева, доц. д-р Пенчо Пенчев.</p>
2	Справочник по прилагане на репродуктивни биотехнологии при дребни преживни животни	<p>Тракийски университет: проф. д-р Наско Василев, доц. д-р Георги Бонев, гл. ас. д-р Иван Фасулков, гл. ас. д-р Манол Карадаев.</p> <p>Институт по Биология и Имунология на Размножаването „Акад. К. Братанов“, БАН: доц. Елена Кистанова, доц. Десислава Абаджиева,</p>
3	Справочник по прилагане на репродуктивни биотехнологии при еднокопитни животни	<p>Тракийски университет: гл. ас. д-р Анатоли Атанасов</p> <p>Институт по Биология и Имунология на Размножаването „Акад. К. Братанов“, БАН: доц. д-р Бойко Георгиев</p> <p>Селскостопанска Академия, Институт по животновъдни науки, Костинброд: доц. д-р Янчо Тодоров, доц. д-р Таня Тодорова,</p> <p>Аграрен университет: проф. д-р Васил Николов, гл. ас. д-р Мая Попова</p>

Изготвен рекламен видео филм за ННП Репробиотех
ИЖН-Костинброд – онлайн конферентни връзки с колеги работещи по програмата и с колеги от водещи научни институти и университети в Европа

Показател 5.

Разширяване създадената от ИЖН-Костинброд, ССА „Европейска мрежа за репродуктивни биотехнологии в животновъдството“.

Показател 6.

"Моделиране на иновативна система за решения чрез комбиниран анализ на мултиспектрални изображения от инфрачервения и видимия спектър в области

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

от ветеринарната медицина и аграрните науки". ФНИ, Конкурс за финансиране на фундаментални научни изследвания.

Договор за сформирание и функциониране на оперативна група по чл. 357-364 от ЗЗД -Оперативна група "Генетика и селекция за конкурентноспособно овцевъдство"за изпълнение на проект "Генотипна преценка на кочове чрез използване генетичен маркер и последваща оценка на развъдната им стойност.

BG06RDNP001-16.003 по подмярка 16.1. „Подкрепа за сформирание и функциониране на оперативни групи в рамките на ЕПИ“ по мярка 16 „Сътрудничество“ от Програма за развитие на селските райони за периода 2014-2020 г.

Наименование на проектно предложение: „Ултразвук за здрави копита“.

Проектно предложение по процедура BG05M20P001-2.016 с наименование "МОДЕРНИЗАЦИЯ НА УНИВЕРСИТЕТСКОТО ОБРАЗОВАНИЕ ЧРЕЗ ДИГИТАЛНА ТРАНСФОРМАЦИЯ (УНИВЕРСИТЕТИ НА ТРЕТОТО ХИЛЯДОЛЕНИЕ)" с вх. рег. № BG05M20P001-2.016-0012. Оперативна програма "Наука и образование за интелигентен растеж".

Създаване на изследователски и иновационен капацитет по симулационна ветеринарна медицина в България чрез разширен трансфер на знания по модела "Skills lab Vienna. ФНИ по партньорство "България-Австрия".

През 2021 г. стартира изпълнението на задачи по Национална научна програма „Интелигентно животновъдство“.

Показател. 7 и 8

	Заглавие	Авторски колектив	Списание	Стойност на индикатора
	Публикувани в пълен текст в референирани и индексирани списания Web of science / Scopus			
1	Oxytetracycline Pharmacokinetics After Intramuscular	Rositsa Mileva, Manol Karadaev, Ivan Fasulkov, Tsvetelina Petkova,	Antibiotics 2020, 9, 392;	SJR-0.96, IF - 4,19; Q1

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - НИП РЕПРОБИОТЕХ“

	Administration in Cows with Clinical Metritis Associated with Trueperella Pyogenes Infection.	Nikolina Rusenova, Nasko Vasilev and Aneliya Milanova., ТУ		
2	Resumption of Cyclic Ovarian Activity by Herbal Preparation AyuFertin in Bulgarian Murrah Buffaloes at Early Postpartum.	Yordanka Пиева; Nasko Vasilev; Ivan Fasulkov; Pencho Penchev; Desislava Abadjieva; Vanya Mladenova, Ayla Ilyazova; Dasha Mihaylova; Stanimir Yotov; Elena Kistanova. ИБИР, ТУ, ССА, УХТ.	Animals, Volume 11, Issue 2, 420. https://doi.org/10.3390/ani11020420 ,	SJR-0.58, IF - 2,70, Q1.
3	Positive effect of natural antioxidant oregonin from Alnus incana bark on ram semen quality stored at 5 °C for 48 h“.	Desislava Abadjieva, Stanimir Yotov, Vanya Mladenova, Liga Lauberte, Ismet Kalvanov, Jelena Krasilnikova, Galina Telesheva, Elena Kistanova , ИБИР, ТУ	Research in Veterinary Science, 2020. 131, 153–15	SJR-0.72, IF - 2,37; SJR-0,55; Q1
4	Influence of the breed and age on hematological and biochemical indicators of mares from Purebred Arabian and Eastbulgarian breeds	Maya Popova, Radka Malinova, Vasil Nikolov, Bouko Georgiev, Paulina Taushanova, Maria Ivanova, АУ, ИБИР	Scientific Papers-Series D-Animal Science, Vol. LXIII, No. 1, 2020, 67-73	IF 1.805; Q2
5	Testing of natural antioxidant oregonin on ram semen quality	E. Kistanova, S. Yotov, M. Ivanova, J. Krasilnikova, G. Telesheva, L. Lauberte, D. Abadjieva, V. Mladenova and D. Gradinarska. ИБИР, ТУ	Reproduction in domestic animals, vol.54, Suppl.3, Proceedings of the 23rd Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), p.104-105.	IF 1.683; Q2
6	Effect of oregonin from Alnus incana bark on the motility and enzyme activity of cooled ram semen	M. Ivanova, N.Vasilev, J. Krasilnikova, G. Telesheva, L. Lauberte, D. Abadjieva, P. Taushanova, V. Mladenova, T.Tsvetkov and E. Kistanova, ИБИР, ТУ	Reproduction in domestic animals, vol.54, Suppl.3, Proceedings of the 23rd Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), p.104-105.	IF 1.683; Q2

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

7	Dietary mineral and vitamin supplementation improved the reproduction, the haematology, and some circulating biochemical's of cyclic EastBulgarian and Arabian mares	Maya Popova, Radka Malinova, Vasil Nikolov, Boyko Georgiev, Paulina Taushanova & Maria Ivanova, АУ, ИБИР	Italian Journal of Animal Science, 20:1, 728-735, DOI: 10.1080/1828051X.2021.1910581	SJR-0.570, IF 1.805, Q2
8	Doppler ultrasound measurements of the blood flow velocity on the fetal heart and aorta in Bulgarian White milk goats.	Ivan Fasulkov, Manol Karadaev, Nasko Vasilev, Kalin Hristov, Ivan Fedev, ТУ	Veterinary Medicine and Science, First published: 01 March 2021 DOI: 10.1002/VMS3.463,	IF - 1,0, SJR-0,490, Q2
9	Ultrasonography determination of gestational age through measurements of some fetal heart indicators in Bulgarian local goats.	Manol Karadaev, Ivan Fasulkov, Nasko Vasilev, Stefka Atanasova. ТУ	Veterinary Medicine and Science. Veterinary Medicine and Science. First published: July 2021. DOI: 10.1002/vms3.564	IF - 1,0, SJR-0,490, Q2
10	Post thaw treatment of frozen buffalo semen with antioxidants Vitamin C and 2-mercaptoethanol	Ivanova M., D. Abadjieva, D., Omaima Kandil, Ahmed Abdoon, Paulina Taushanova, Boyko Georgiev, ИБИР	Biotechnology & Biotechnological Equipment, ID: TBEQ 1837013 / in press/ https://doi.org/10.1080/13102818.2020.1837013	IF 1,186, Q3
11	Effect of heat stress on some reproductive traits in Holstein-Friesian cows under temperate continental climate	Toncho Penev, Dimo Dimov, Nasko Vasilev, Jurii Mitev, Chonka Miteva, ТУ	Bulgarian Journal of Agricultural Science, (Suppl 1), 155-162.	SJR-0,250, Q3
12	Synchronization of the ovulation (Ov Synch) in beef cattle	Tania Todorova, Tzvetelina Todorova , Iancho Todorov, ИЖН, ССА	Bulgarian Journal of Agricultural Science, 2020, (под печат)	SJR-0,250, Q3
13	Influence of the transportation of cow ovaries on the IVM/IVF/IVC results	Tzvetelina Todorova , Iancho Todorov, ИЖН, ССА	Bulgarian Journal of Agricultural Science, 2020 (под печат)	SJR-0,250, Q3
14	Influence of organic mineral supplement MultiMix on the	Teodora Angelova, Svetlana Georgieva, Daniela Yordanova,	Bulgarian Journal of Agricultural Science, 26 (Suppl. 1) 2020, 150-154	SJR-0,250, Q3

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

	calving interval in dairy cattle	Vladimir Karabashev Jivko Krastanov, CCA		
15	Comparative study of the plasma concentrations of fibrinogen and ceruloplasmin during pregnancy and postpartum period in Bulgarian native goats.	Ivan Fasulkov, Manol Karadaev, Dimitrinka Zapryanova, Teodora Mircheva, Nasko Vasilev, Fabrizio Ceciliani, TY	Bulgarian Journal of Veterinary Medicine (online first). ISSN 1311-1477;	SJR-0,210, Q3
16	Effects of the herbal preparation AyuFertin, used for anestrus overcome, on fatty acids composition of milk in Bulgarian Murrah buffaloes.	Yordanka Пиева, Dasha Mihaylova, Ayla Ilyazova, Pencho Penchev, Desislava Abadjieva, Elena Kistanova, ЗИ-Шумен, CCA, УХТ, ИБИР	Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, (под печат) (online first). ISSN 1311-1477;	SJR-0,210, Q3
17	Comparative characterization of seminal plasma proteins in Holstein and East Bulgarian horse breeds in relation with functional parameters of spermatozoa,	M. G. Ivanova, B. A. Georgiev, P. S. Taushanova, D. G. Gradinarska, T. S. Tsvetkov & Z. A. Shekerov. ИБИР	Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 2021, vol. 24, 3, 355-364.	SJR-0,210, Q3
18	Effect of different breed and age on the proteine profile in ram seminal plasma,	M. Ivanova, D. Gradinarska, S. Yotov, D. Abadjieva, Ts. Tzvetkov, V. Mladenova & E. Kistanova. ИБИР, TY	Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 2021, vol. 24, 3, 344-354.	SJR-0,210, Q3
19	Sperm motility and viability of chilled ram semen collected by artificial vagina and electroejaculation.	Stanimir Yotov, Anatoli Atanasov, Ivan Fasulkov, Manol Karadaev, Anton Antonov, Plamen Georgiev, Elena Kistanova, ИБИР, TY	Veterinarija ir Zootechnika 2020;78(100):109-113	SJR-0,134, Q3
20	SIRT1 gene methylation in sperm differs in rams with high and low fertility.	Abadjieva D., N. Stancheva, Y. Marchev, S. Yotov, E. Kistanova, ИБИР, CCA, TY	Acta phytotechnica et zootechnica, 23, 156- ISSN 1336-9245 https://doi.org/10.1080/13102818.2020.183701	SJR-0,120 , Q4
	Публикувани в пълн текст във вторични			

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - НИП РЕПРОБИОТЕХ“

	литературни източници			
1	Синхронизиране на еструс чрез 5-дневно прогестагеново третиране със или без СЖК при овце на 12 месечна възраст от породата Лакон	Никола Методиев, ИЖН, ССА	Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (1), 47-55	CABI, WEB OF SCIENCE
2	Puberty in Bucks	Tsvetomira Bancheva, Svetoslava Stoycheva, Penko Zunev, ИПЖЗ, ССА	Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (2), 11-30.	Web of science (CABI)
3	Characteristics of the onset of puberty in male kids of three breeds	Svetoslava Stoycheva, Penko Zunev, Tsvetomira Bancheva, ИПЖЗ, ССА	Trakia Journal of Sciences, No 1, pp 63-69, 2021.	Web of science (CABI)
4	Non-hormonal feed additives as an alternative in animal reproductivity (a mini review)	Dasha Mihaylova, Albert Krastanov, Nasko Vasilev-YXT, ТУ	Trakia Journal of Scienie No 4, pp 405-411.2020	Web of science (CABI)
5	Application of an exogenous source of Progesterone in prevention of early embryonic death in dairy cows.	G. Bonev, ТУ	Agricultural Science and Technology. Vol. 13, No 1, pp 3-11, 2021	AGRIS (FAO), CABI, EBSCO-host, ROAD and DOAJ.
6	Influence of heat stress on reproductive performance in dairy cows and opportunities to reduce its effects – a review.	T. Penev, D. Dimov1, N. Vasilev, J. Mitev1, Tch. Miteva, I. Marinov, M. Stojnov, ТУ	Agricultural Science and Technology, Vol. 13, No 1, pp 24-27, 2021	AGRIS (FAO), CABI, EBSCO-host, ROAD and DOAJ.
7	Effects of liquid organic mineral complex (MultiMix®) on milk yield, composition and cheesemaking capacity of milk in dairy cows	T. Angelova, K. Nedelkov, D. Yordanova, V. Karabashev, J. Krastanov, ССА	Agricultural Science and Technology, Vol. 13, No 2, 152-156, 2021	AGRIS (FAO), CABI, EBSCO-host, ROAD and DOAJ.

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

8	Reproductive response at Ile de France ewes after 5 days progestagen treatment plus or without PMSG	Nikola Metodiev, ИЖН, ССА	Scientific Papers. Series D. Animal Science, (под печат)	Web of science
9	Study of protocols for synchronization of estrus in beef cattle	Radka Malinova, Svetoslav Karamfilov, Vasil Nikolov, АУ	AGRICULTURAL SCIENCES, Volume 13 Special Issue 28, 91-98	Web of Science
10	Заплодяемост при малакини от породата Българска Мура след приложение на OVSYNCH протокол през неразмножителен сезон	Й. Илиева, П. Пенчев, И. Фасулков, Р. Ненова, Н. Василев, ЗИ-Шумен, ССА, ТУ	Сборник от електронна юбилейна научна конференция с международно участие “Животновъдната наука-предизвикателства и иновации, 5 ноември, 2020 г. Костинброд, 279-286.	
11	Алтернативни схеми за интензификация на асистираната репродукция при овце	Стайка Лалева, Георги Калайджиев, Николай Иванов, Йовка Попова, Петя Славова, Даниела Митева, Цветелина Тодорова, ССА	Сборник от конференция на ИЖН-Костинброд, 05.11.2020, 306-313	
12	Връзка между скроталната обиколка, теглото и някои измервания на тялото при пръчове от породата Българска Бяла млечна.	Светослава Стойчева, Пенко Зунев, Цветомира Банчева, Лора Мондешка Институт по планинско животновъдство и земеделие,	Сборник от конференция на ИЖН-Костинброд, 05.11.2020, 299-303	
13	Ефект от витамин С и Пентоксифилин върху определени параметри на криоконсервирана сперма от жребец.	Бойко Георгиев, П. Таушанова, З. Шекеров, Д. Абаджиева – ИБИР, БАН	ONLAJN Конференция на ИЖН-Костинброд	
14	If the level of PRM1 transcripts in spermatozoa could be predicted marker of ram semen quality ?	D. Abadjieva, N. Stancheva, Y. Marchev, N. Georgiev, E. Kistanova – ИБИР, БАН и ЗИ-Шумен	ONLAJN Конференция на ИЖН-Костинброд	
	Участие в конференции			
1	Сезонни промени в оксидативния стрес и антиоксидантната активност на млечни крави през	Наско Василев, Иван Фасулков, Манол Карадаев, Галина Николова, Янка Карамалакова, Веселина Гаджева, ТУ	International Conference Veterinary medicine in service of people, Oct 20-22, 2021, St. Zagora	

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - ННП РЕПРОБИОТЕХ“

	преходния период и влиянието върху заплодяемостта			
2	Pregnancy rates associated with oxidative stress after Presynch/Ovsynch synchronization of Bulgarian Murrah buffalo cows in breeding and out of breeding season.	Йорданка Илиева, Радена Ненова, Наско Василев, Иван Фасулков, Пенчо Пенчев, Галина Николова, Янка Карамалакова, Веселина Гаджева, ТУ, ЗИ-Шумен, ССА	International Conference Veterinary medicine in service of people, Oct 20-22, 2021, St. Zagora	
3	Приложение на ELISA тестове за установяване на свързани с бременността гликопротеини (PAGs) в серум и мляко при лактиращи крави.	Наско Василев, Иван Фасулков, Манол Карадаев, Бояна Иванова, ТУ	International Conference Veterinary medicine in service of people, Oct 20-22, 2021, St. Zagora	
4	Oxidative stress parameters affecting fertility of Bulgarian Murrah buffalos depending on age and season	Galina Nikolova, Yanka Karamalakova, Veselina Gadjeva, Nasko Vasilev, Ivan Fasulkov, Pencho Penchev, Yordanka Ilieva, ТУ, ЗИ-Шумен, ССА	Nine International Conference on Radiation and Various fields of research, June 14-18, 2021, Herceg Noviq Montenegro	
5	Real time biomarkers affecting fertility of Bulgarian Murrah buffalo depending on age and season	Yanka Karamalakova, Galina Nikolova, Veselina Gadjeva, Nasko Vasilev, Ivan Fasulkov, Pencho Penchev, Yordanka Ilieva, ТУ, ССА	Nine International Conference on Radiation and Various fields of research, June 14-18, 2021, Herceg Noviq Montenegro	
6	SIRT1 gene methylation in sperm differs in rams with high and low fertility.	Abadjieva D., N. Stancheva, Y. Marchev, Yotov St., E. Kistanova. ИБИР, ССА, ТУ	International Symposium 28, Padova 2020, September 23-25, Italy, Padova University. Paper ID 691.	
7	Storage of liquid semen: perspective of using the plant bioactives.	E. Kistanova, S. Yotov, M. Ivanova, D. Abadjieva, J. Krasilnikova, G. Telesheva, V. Mladenova, L. Lauberte, P. Taushanova. ИБИР, ТУ	Congress with international participation of the Romanian Society of Cell Biology, The 37th Annual scientific session of the Romanian Society of Cell Biology June 20-23, Constanța, Romania, p. 69.	

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - НИП РЕПРОБИОТЕХ“

8	Effects of four extenders on the quality of fresh semen in Bulgarian sport horse breed	B. Georgiev, Taushanova, Shekerov, Parusheva, Abadjieva., ИБИП	JAAR – под печат	<i>IF</i>
9	Dietary mineral and vitamin supplementation improved the reproduction, the haematology, and some circulating biochemical's of cyclic East-Bulgarian and Arabian mares	Maya Popova, Radka Malinova, Vasil Nikolov, Bouko Georgiev, Paulina Taushanova, Maria Ivanova, АУ, ИБИП	Italian Journal of Animal Science.ID is TJAS-2020-0419.	Web of Science http://animalsciencejournal.usamv.ro/Scopus ; IF 1.805; Q2
10	Study of protocols for synchronization of estus in heifers with sex-sorted semen	Radka Malinova, Vasil Nikolov, Svetoslav Karamfilov, АУ	Univ Agricultural Scienses and Veterinary medicine Bucharest, 59 ISSN / eISSN: 2285-5750 / 2393-2260	Web of Science
11	Application of transvaginal ultrasonography for estimation of the fetal number in Bulgarian White milk goats	I. Fasulkov, S. Yotov, M. Karadaev, N. Vasilev, ТУ	The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine	
12	Conception rate in Bulgaian Murrah buffaloes after presynch /ovsynch protocol applied in non-breeding and breeding sedson	Y. Ilieva, P. Penchev, S. Yotov, I. Fasulkov, R. Nenova, N. Vasilev, ЗИ-Шумен, ССА, ТУ	10th Asian Buffalo Congress (ABC) June 3 – 5, 2021, Nepal	
13	Суперовуляция на крави-донори при ембриотрансфер	Цветелина Тодорова, Янчо Тодоров, ССА	Конференция на ИЖН-Костинброд, 05.11.2020	
14	Индуциране на синхронен еструс в извънслучен сезон при дзвиски от Синтетична популация българска млечна чрез мелатонин - прогестагеново третиране и	Никола Методиев, Мария Иванова, Георги Димов. ССА, ИБИП	Second International Conference Veterinary medicine in service of people, Oct 18-19, 2019, St. Zagora	

Национална научна програма: „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България - НИП РЕПРОБИОТЕХ“

	синтетичен аналог на PGF 2 α			
15	Effect of treatment with synthetic prostaglandin in cycling Bulgarian donkey during breeding season.	Anatoli Atanasov, Anton Antonov, Boyana Ivanova. ТУ	Second International Conference Veterinary medicine in service of people, Oct 18-19, 2019, St. Zagora	
16	Influence of progesterone Ecg treatment on liter size and sex ration in ewes.	Георги Бонев, Станимир Димитров. ТУ	Международна конференция „Аграрна наука и бизнес“ 30-31 май, Старозагорски минерални бани.	

Тракийски университет, гр. Стара Загора