

Određivanje fizioloških posebnosti spolnog ciklusa i rasplodne sezone u ovaca pasmine lička pramenka

S. Vince*, Maja Platiša, J. Grizelj, Branimira Špoljarić,
D. Đuričić, Foteini Samartzi, H. Valpotić, V. Berta, N. Rošić,
B. Stojanov i M. Samardžija



Uvod

Pisanje ovog rada potaknuto je velikim interesom za bolje razumijevanje kompleksne fiziologije spolnog ciklusa u ovaca, što je omogućeno zahvaljujući Europskom znanstvenom projektu na temu rasplodivanja malih preživaca i zaštite autohtonih hrvatskih pasmina ovaca u kojem sudjeluje Klinika za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

U Republici Hrvatskoj uzgaja se oko 600.000 ovaca, od čega oko 90% čine grla hrvatskih autohtonih pasmina, a preostalih desetak posto ostale visoko produktivne pasmine ili njihovi križanci. Ukupno je u uzgoju zastupljeno 16 pasmina od kojih su devet autohtone hrvatske pasmine: dalmatinska pramenka, dubrovačka ruda, cigaja, creska ovca, istarska ovca, krčka ovca, lička pramenka, paška ovca i rapska ovca.

Procjena je da se u Lici uzgaja oko 30.000 grla ličke pramenke, a zahvaljujući upisu novih uzgajivača u nekoliko posljednjih godina koji uzgajaju ovu pasminu, broj uzgojno valjanih grla narastao je na 4.982 grla (Barać i sur., 2007.).

Tijekom 2011. godine u Republici Hrvatskoj uzgojno selekcijski rad provodio se u populaciji od 46.531 uzgojno valjanih ovaca, kod 524 uzgajivača i 16 pasmina. Najbrojnija pasmina unutar uzgojno valjane populacije je dalmatinska pramenka. Druga po veličini populacija, lička se pramenka, uzgaja u stadima prosječne veličine 168 grla (Mulc i sur., 2012.).

Lička pramenka nastala je u gorsko-planinskim područjima Like i Gorskog kotara. Tijekom oblikovanja pasmine zabilježeni su pokušaji merinizacije i oplemenjivanja mesno-vunskim

Dr. sc. Silvijo VINCE*, dr. med. vet., docent (dopisni autor, e-mail: svince@vef.hr), dr. sc. Juraj GRIZELJ, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Branimira ŠPOLJARIC, dr. med. vet., viša asistentica, dr. sc. Hrvoje VALPOTIĆ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Maja PLATIŠA, dr. med. vet., Guernsey Islands, Velika Britanija; dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Veterinarska stanica Đurđevac, Hrvatska; dr. sc. Foteini SAMARTZI, dr. med. vet., redovita profesorica, Hellenic Agriculture Organization-Demeter, Solun, Grčka; Velimir BERTA, dr. med. vet., Veterinarska stanica Varaždin, Hrvatska; Nikola ROŠIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Jastrebarsko, Hrvatska; Boris STOJANOV, dr. med. vet., Veterinarski centar Strumica, Makedonija

ovnovima iz Francuske i Njemačke (Merino Precoce, Ile de France, Merinolandschaf) koji nisu ostavili značajniji trag na pasmini (Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj 2010.).

Pramenka je ime dobila po otvorenom runu s jasno uočljivim pojedinim pramenovima. Pasmina je rasprostranjena u širem području jugoistočne Europe, Azije, Afrike i manjem dijelu srednje Europe. Kao posljedica različitih ekoloških uvjeta, ponajprije hranidbe, pramenka se javlja u više sojeva. Pritom se lička pramenka ističe kao najtipičniji oblik pramenke u Hrvatskoj. Jedna od najznačajnijih odlika ove pasmine, koje su i uvjetovale njezinu zastupljenost u ovčarstvu Hrvatske, su izrazita otpornost i izdržljivost za kretanje na velikim udaljenostima, dobro iskorištavanje travnjaka loše kvalitete te prilagođenost na lički tip pašnjaka, kamenite predjele osebujne klime s mnogo snijega i sa sušnim ljetima. Ovce mogu postići tjelesnu masu oko 45 do 55 kg, a ovnovi 65 do 75 kg. Pramenka je izrazito kasnozrela pasmina ovaca, spolnu zrelost doseže u dobi od 8 do 12 mjeseci te se prvi put pripuštaju u dobi od godine i pol. Glavna namjena ove pasmine je proizvodnja mesa, ali i mlijeka i vune (Uremović i sur., 2002.).

Ovce su sezonski poliestrične životinje koje se u krajevima umjereno kontinentalne klime tjeraju u jesen kao posljedica smanjenja dnevnog svjetla, a janje u proljeće (Engl. *Short day breeder*). U područjima tropske i subtropske klime ovce su spolno aktivne tijekom cijele godine jer nema godišnjih svjetlosnih varijacija. Međutim, iznimku od ovog pravila čine neke pasmine poput dorset horn i romanovske ovce koje su poliestrične i u uvjetima naše klime, a ne samo u područjima tropskog i subtropskog pojasa što dokazuje da osim fotoperioda, glavni čimbenik sezonosti ovaca je i genetika (Hafez, 1952.).

Sezonost malih preživača je regulirana putem razine melatonina u cirkulaciji. Melatonin je hormon koji se sintetizira u epifizi i pojačano se izlučuje samo noću. Smanjenjem dnevnog svjetlosti početkom jeseni povećava se razina melatonina u cirkulaciji, koji djeluje kao kemijski glasnik duljine noći (dana) i potiče sintezu i izlučivanje gonadotropnih hormona adenohipofize, folikulostimulirajućeg (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH) (Legan i Karsh, 1979.).

Spolni ciklus predstavlja vrijeme od estrusa do estrusa ili od ovulacije do ovulacije. U ovaca se tijekom sezone spolni ciklus ponavlja u prosječnim razmacima od 16 do 17 dana, u rasponu od 14 do 19 dana (Asdell, 1964.), a reguliran je mehanizmom povratne veze na osovini hipotalamus-hipofiza-jajnici. Hipotalamus izlučuje gonadotropne otpuštajuće hormone (GnRH – Gonadotropin-releasing hormones) kojima regulira otpuštanje gonadotropnih hormona hipofize FSH i LH. Porastom razine FSH na jajnicima se stimulira rast folikula, koji počinju izlučivati steroidne hormone jajnika, estradiol-17 β i estron. Ova se faza spolnog ciklusa zove proestrus i u većini slučajeva traje 1 do 2 dana (Heape, 1990.). Zatim slijedi estrus u kojem je ovca spremna za prirodni pripust ili umjetno osjemenjivanje. Estrus traje 18 do 72 sata, u prosjeku 36 sati (Samardžija i sur., 2010.). Visoka razina estrogena djeluje pozitivnom povratnom vezom na adenohipofizu potičući izlučivanje LH koji dovodi do konačnog dozrijevanja i ovulacije Graafovih folikula. Ovulacija je spontana i zbiva se pred kraj estrusa, najčešće 20 do 40 sati, a u prosjeku 27 sati od njegova početka (Gordon, 1997.), odnosno 24 sata poslije porasta LH vala (Cumming i sur., 1971.). Ukoliko u ovoj fazi ciklusa nema ovna u blizini, ovce ne pokazuju vanjske znakove estrusa, mirne su, apatične, bez vidljivih promjena na stidnici. Stoga se mrkanje u ovaca otkriva pomoću ovna probača koji se pušta među ovce, a one

mu se same otkrivaju, pokazujući pasivni refleks opasivanja i dopuštaju parenje (Matthews i sur., 1991.).

Nakon estrusa ovca ulazi u metestrus, pri čemu na mjestu ovuliranog folikula dolazi do tvorbe žutog tijela. Ono sintetizira progesteron koji priprema sluznicu maternice za prihvata ploda ukoliko je došlo do oplodnje, mehanizmom negativne povratne veze prema osovini hipotalamus-hipofiza. Kao posljedica niske razine FSH i LH nastavlja se rast folikula na janjima, ali izostaje njihovo dozrijevanje i ovulacija. Nakon metestrusa, koji traje 2 do 3 dana (Heape, 1990.), slijedi diestrus u kojem pod utjecajem prostaglandina iz endometrija dolazi do razgradnje žutog tijela, ukoliko nije došlo do gravidnosti i mehanizma majčinskog prepoznavanja ploda te se ciklus ponavlja sve do kraja sezone.

Kompleksnosti sezonosti i spolnog ciklusa ovaca pridonosi i činjenica da osim već spomenutog svjetla, odnosno fotoperioda postoje i drugi vanjski ili okolišni utjecaji koji će djelovati na osovinu hipotalamus – hipofiza. Tu se ponajprije osim socijalno-spolnih utjecaja (ovan), utjecaja stresa i temperature ističe utjecaj pojačane hranidbe ovaca. Kvalitetna hranidba ovaca tijekom cijele godine, a posebno u razdoblju prije postizanja spolne zrelosti i uoči početka spolne sezone može imati veliki utjecaj na daljnji uspjeh rasplodivanja. Već je dugo godina poznata pojava pojačane hranidbe (Engl. *Flushing*) u ovaca kroz 30 do 60 dana prije planirane rasplodne sezone. Ovakav pojačan unos energije i bjelančevina utječe na povećanje tjelesne kondicije rasplodnih jedinki, a time se povećava broj folikula koji sazriju i postotak ovulacije te broj janjadi po ovci i sveukupna reproduktivna učinkovitost (Cergolj i Samardžija, 2006., Samardžija i sur., 2010.).

Cilj je ovoga rada određivanje fizioloških posebnosti spolnog ciklusa i rasplodne sezone ovaca pasmine lička

pramenka, s obzirom da su podatci o ovoj tematici do sada temeljeni samo prema sezoni janjenja ovaca hrvatskih farmara. Lička pramenka je po zastupljenosti druga pasmina ovaca u hrvatskom ovčarstvu te je detaljno poznavanje njezinih reproduktivnih obilježja nužno za uspješnu reprodukciju i uzgoj. Posebno će se obratiti pozornost na precizno utvrđivanje prosječnog trajanja spolnog ciklusa u pramenke mjerenjem koncentracije progesterona i LH radi stjecanja praktičnih znanja neophodnih za daljnja istraživanja reproduktivnih osobitosti ove pasmine.

Ostvarenjem ovih ciljeva utvrdit ćemo početak i trajanje rasplodne sezone te perioda anestrusa pramenke u našem klimatskom podneblju mjerenjem koncentracije progesterona. Ovakve su spoznaje važne su i za primjenu različitih uzgojnih tehnologija (pojačana hranidba, uvođenje mužjaka) u razdoblju prije početka sezone kako bi se poboljšali reproduktivni rezultati i avansirala rasplodna sezona. Upravo je i jedan od ciljeva ovoga rada bila usporedba početka dvije rasplodne sezone nakon primjene pojačane hranidbe. Za proučavanje sezonske aktivnosti koristit će i redovita mjerenja opsega testisa i koncentracije testosterona u ovna.

Materijali i metode

Životinje

Istraživanje je provedeno na osam ovaca i jednom ovnu pasmine lička pramenka smještenih u vanjskom dijelu ovčarnika Klinike za porodništvo i reprodukciju, Veterinarskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu. Životinje su bile kupljene za potrebe međunarodnog projekta „INDI_SHEEP TRADI_CHEESE” (SEE-ERA.NET Plus – 083) na Obiteljskom gospodarstvu Flanjak kod Slunja, a iz stada su nasumično izabrane. Prosječna starost ovaca bila je oko 3,5 godine (2-5 godina), a ovan je bio star 4 godine. Pokus je trajao 1,5 godinu.

Tabela 1. Sastav potpune krmne smjese za ovce

Analitički sastav	%	Dodatci u 1 kg hrane			
		Vitamini	i.j.	Minerali	mg
Sirove bjelančevine	12	A	8.000	Fe	50
Sirova vlaknina	5	D ₃	1.200	I	0,35
Sirova ulja i masti	3			Co	0,15
Sirovi pepeo	5			Mn	30
Kalcij	0,50			Zn	60
Fosfor	0,60			Se	0,25
Natrij	0,15				

Hranidba

Prve rasplodne sezone (2011. godine) ovce su hranjene samo sijenom kao i na Obiteljskom gospodarstvu Flanjak koje im je bilo dostupno *ad libitum*. Kako bi se analizirao učinak pojačane energetske hranidbe s vitaminsko-mineralnim dodatkom, 3 mjeseca prije očekivane druge rasplodne sezone (2012. godine) ovce su uz sijeno dobivale i potpunu krmnu smjesu za ovce (1/2 kg dnevno po životinji) čiji je sastav naveden u tabeli 1. Voda im je bila dostupna *ad libitum*.

Uzorkovanje krvi i orhidometrija

Radi određivanja početka i trajanja rasplodne sezone te trajanja perioda anestrusa ovcama je uzorkovana krv u periodu od 10. 6. 2011. do 05. 09. 2012. godine kako bi se utvrdio početak rasplodne sezone 2011. i 2012. godine te jedan period anestrusa. Krv je uzorkovana venepunkcijom (*v. jugularis*) svakih 5 do 10 dana pomoću Vacutainer sistema u epruvete od 5 mL. Odmah po vađenju krvi epruvete su centrifugirane na 4.500 okretaja u minuti kroz 15 minuta. Nakon centrifugiranja serum je preliven u plastične kivete od 2 mL i duboko smrznut (-20 °C) do analize koncentracije progesterona. U istom periodu krv je uzorkovana i ovnu radi određivanja koncentracije testosterona i to svaka dva tjedna, a postupak centrifugiranja i pohrane seruma se nije razlikovao. Uz krv, ovnu je rađena i orhidometrija svaki

tjedan u isto vrijeme ujutro mjerenjem opsega (cm) u najširem dijelu skrotuma pomoću krojačkog metra (Slika 1).

Radi određivanja karakteristika i trajanja spolnog ciklusa ovaca uzorkovana je krv u periodu od 10.–31. listopada 2012. godine. U tu svrhu estrus ovaca je sinkroniziran dvokratnom i.m. aplikacijom (u razmaku od 12 dana) sintetičkog analoga prostaglandina F_{2α} (Estrumate®, cloprostenol) u dozi od 75 µg, a pojava estrusa ovaca otkrivena je pomoću ovna probača (ovan opremljen pregačom i bojom za obilježavanje). Kada je prva ovca bila obilježena od strane ovna probača započeto je uzorkovanje krvi i to svaki dan ujutro radi određivanja koncentracije progesterona te svaka 4 sata od 10.–13. i 26.–29. listopada 2012. godine radi određivanja koncentracije LH, odnosno potvrde ovulacije (slika 2). Postupak centrifugiranja i pohrane seruma je bio isti kao i za progesteron.

Analiza seruma

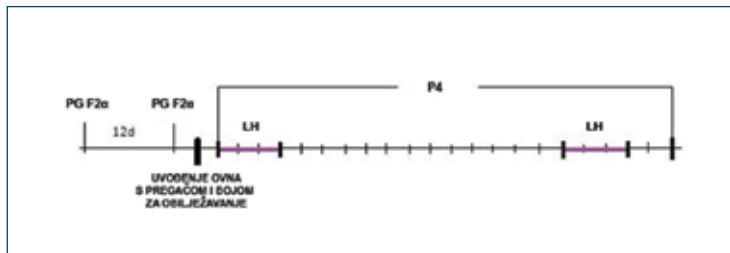
Kod utvrđivanja koncentracije progesterona i testosterona, analiza seruma je rađena pomoću automatskog sistema Immulite® One (IMMULITE One Immunoassay System, Siemens Medical) na Zavodu za kemiju i biokemiju, Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. To je analitička metoda zasnovana na imuno-kemiluminiscenciji koja koristi selektivno vezanje protutijela koja inkorporiraju markere (alkalna fosfataza)



Slika 1. Mjerenje opsega u najširem dijelu skrotuma (orhidometrija).

da bi izazvala mjerljivi signal. Ova metoda se smatra najboljom alternativom radioimunoanalizi za mjerenje niskih koncentracija analita u kompleksnim uzorcima. Preciznost ove metode određena je pomoću koeficijenta varijacije (CV) unutar analiza istog dana te između analiza kroz nekoliko dana (intra and inter assay). Koeficijent varijacije unutar analize za progesteron je iznosio 3,48%, a između analiza 7,17%. Koncentracija testosterona je određena u jednom danu, a koeficijent varijacije unutar analize iznosio je 4,40%.

Analiza LH rađena je pomoću Imunoenzimnog testa (ELISA) na kitovima LH DETECT® (INRA; Francuska) za ovce. Apsorbancija je očitana spektrofotometrom na 450 nm, a rezultati su izračunati pomoću eksponencijalnih kalibracijskih krivulja.



Slika 2. Shema sinkronizacije i uzorkovanja krvi ovaca

izračunato je oduzimanjem vremenskog trajanja lutealne faze od trajanja spolnog ciklusa. Grafikonu su izrađeni pomoću modula SAS/GRAPH, (PROC GPLOT), a u izradi grafikona je korištena anotacijska grafika. Izlazni format grafikona bio je png (Portable Network Graphics) u rezoluciji od 300 dpi (Dots Per Inch).

Rezultati

Prema progesteronskom profilu ovaca gledano kroz dvije rasplodne sezone prva ovca je iskazala cikličnu aktivnost krajem srpnja, ali tek krajem kolovoza više od 50% ovaca ulazi u rasplodnu sezonu. Ciklična aktivnost u gotovo svih ovaca bila je zabilježena krajem rujna i održala se do prosinca. Zajednički progesteronski profil ovaca kroz dvije rasplodne sezone prikazan je u grafikonu 1. Iz grafikona se još može iščitati da su neke ovce imale jednokratni porast progesterona po dolasku životinja s Obiteljskog gospodarstva Flanjak na Veterinarski fakultet krajem lipnja 2011. godine.

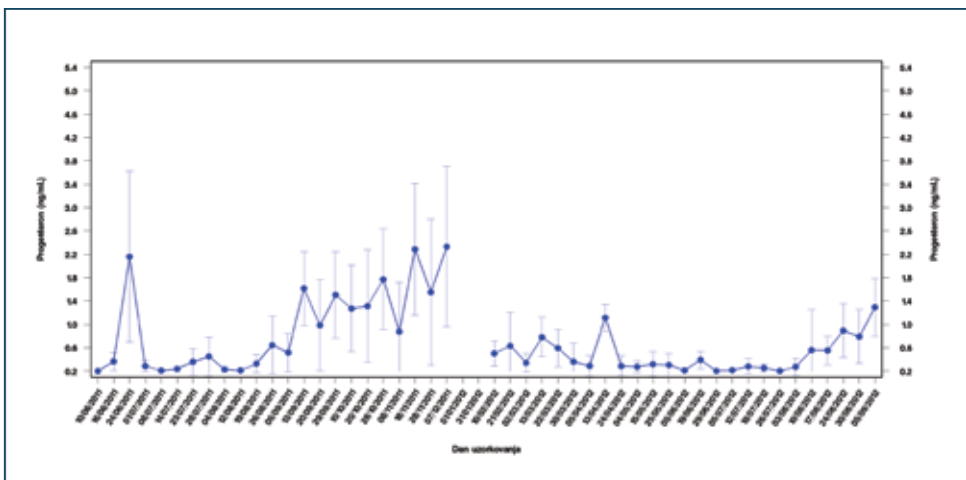
Određivanjem koncentracije testosterona (kroz dvije rasplodne sezone) u ovna utvrđen je značajniji porast tijekom kolovoza što odgovara i periodu kada je

veći postotak ovaca iskazao cikličnu aktivnost. Porastu koncentracije testosterona prethodio je porast opsega skrotuma što je vidljivo iz grafikona 2.

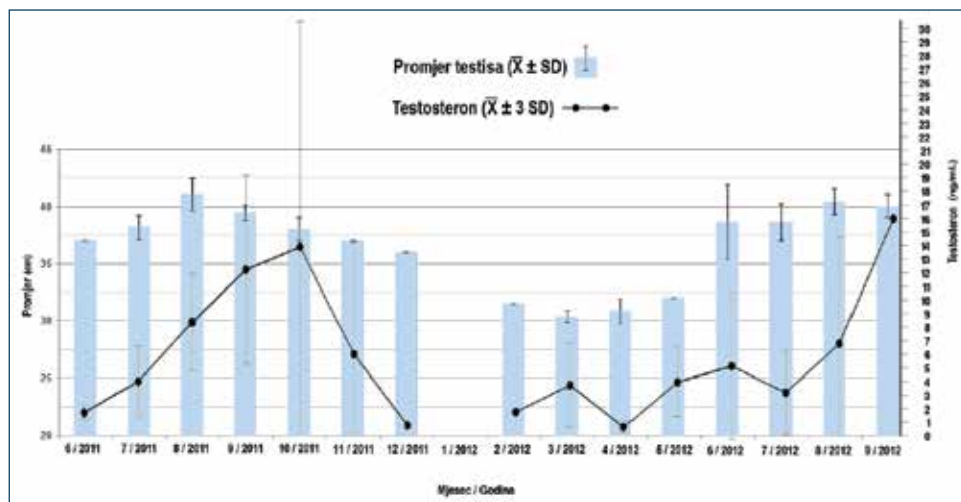
Uspoređujući dvije rasplodne sezone, za sezonu 2012. godine je zabilježen značajniji raniji početak cikličke aktivnosti u prosjeku 19 dana ($P < 0,05$). Prosječna vrijednost medijana s 95% intervalom pouzdanosti (prikazan u danima s intervalom od 1. siječnja do datuma ulaska u rasplodnu sezonu) za sezonu 2011. iznosio je 255,5 (238-272) dana dok je za sezonu 2012. godine iznosio 236,5 (229-244) dana. Procjena razlike početka cikličnosti ovaca između rasplodnih sezona 2011. i 2012. godine je prikazana u grafikonu 3.

Prosječno trajanje i standardna devijacija spolnog ciklusa ličke pramenke iznosi $17,2 \pm 0,61$ dana, lutealne faze ciklusa $13,8 \pm 1,23$ dana, a folikularne faze ciklusa $3,4 \pm 0,65$ dana (Tabela 2). Za dvije ovce nije određeno trajanje spolnoga ciklusa jer su nakon sinkronizacije iskazale estrus kasnije od predviđenog te nije zabilježen LH peak.

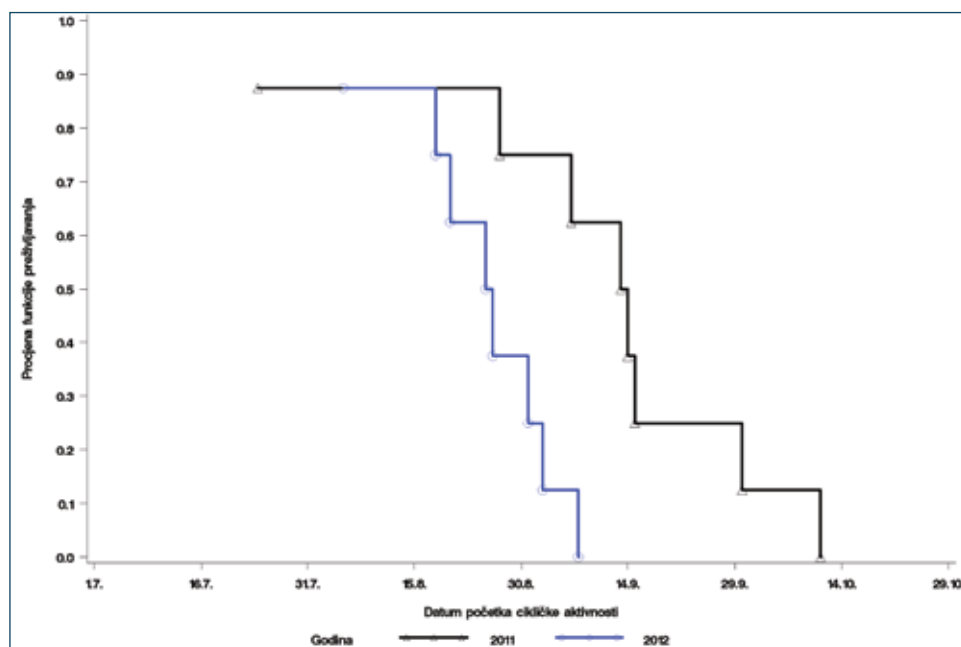
Grafički prikaz srednjih vrijednosti progesterona i LH šest ovaca tijekom spolnog ciklusa prikazan je u grafikonu 4.



Grafikon 1. Progesteronski profil ovaca tijekom dvije rasplodne sezone 2011. i 2012. godine.



Grafikon 2. Istovremeni prikaz prosječne vrijednosti za opseg skrotuma i koncentracije testosterona kroz dvije rasplodne sezone.



Grafikon 3. Krivulje procjene početka cikličke aktivnosti ovaca dviju rasplodnih sezona (2011. i 2012. godina).

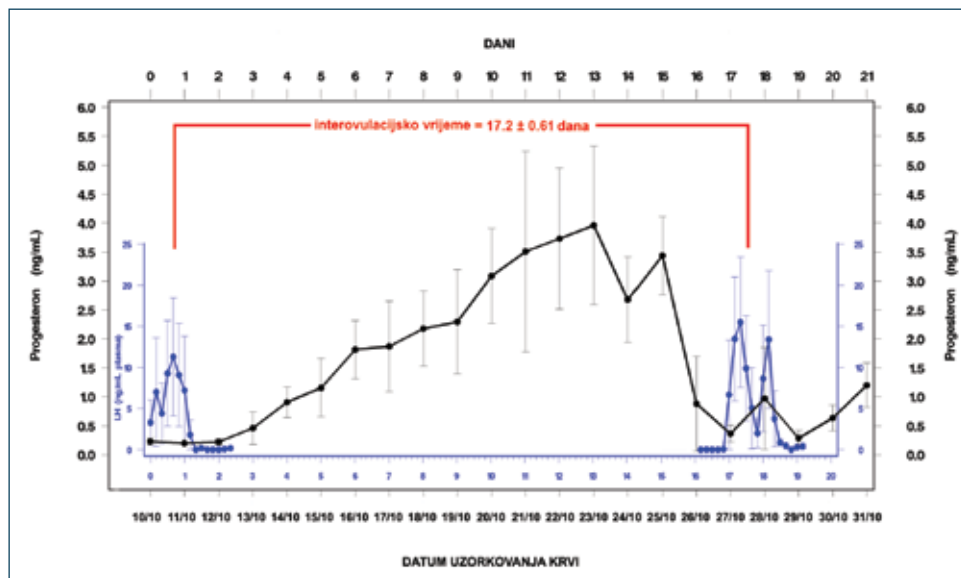
Rasprava

Na osnovu dobivenih podataka o koncentraciji progesterona zaključili smo da sezona spolne aktivnosti započinje krajem srpnja, što se podudara s

podacima farmera koji je primijetio da se manji postotak ovaca janji već krajem prosinca. Budući da gravidnost u ovce traje pet mjeseci, očigledno je da je do koncepcije došlo krajem srpnja. Ipak,

Tabela 2. Prosječno trajanje lutealne i folikularne faze ciklusa u ovaca

Ovca	Spolni ciklus (od LH peak-a do LH peak-a)	Lutealna faza (24 h od LH peak-a do pada P_4 – luteolize)	Folikularna faza (Spolni ciklus - lutealna faza)
	Dani		
77304	17,3	14,0	3,3
77326	17,0	13,0	4,0
78458	17,7	15,0	2,7
85509	16,5	12,8	3,7
85778	16,5	12,5	4,0
89814	18,0	15,5	2,5
Prosjek	17,2	13,8	3,4

**Grafikon 4.** Istovremeni prikaz srednjih vrijednosti koncentracije progesterona i LH za šest ovaca.

većina ovaca u pokusu ulazi u sezonu krajem kolovoza i tijekom rujna, a nastavlja sa spolnom aktivnošću sve do prosinca što je općenito potvrđeno za većinu pasmina ovaca (Chemineau i sur., 1992.). Uspoređujući podatke s ostalim sojevima pramenki, početak sezone spolne aktivnosti se podudara i to kod pramenki držanih na sličnoj zemljopisnoj širini, u uvjetima umjerene kontinentalne

klime, kao što je slučaj sa sjeničkom pramenkom u Srbiji (Milovanović i sur., 2012.). Ukoliko su pramenke uzgajane zemljopisno južnije od ličkog soja pramenke, početak spolne aktivnosti nastupa ranije (krajem lipnja), što su potvrdili Robić i suradnici 1992. godine proučavajući sezonu spolne aktivnosti pramenki s različitih područja bivše države. Za razliku od ličke pramenke,

europske pasmine ovaca koje se uzgajaju sjevernije od našeg podneblja, započinju sa spolnom aktivnošću u studenom (Gomez-Brunet i Lopez-Sebastian, 1991.). Shodno tome i trajanje rasplodne sezone u ličke pramenke je dulje od europskih pasmina koje se uzgajaju sjevernije, ali kraće od ovaca držanih južnije od našeg podneblja. Rasplodna sezona u većine ovaca završava tijekom zimskog perioda (Hafez, 1952.), što smo i potvrdili u našem istraživanju. Općenito uzevši, ovce uzgajane u umjerenom klimatskom podneblju u srednjim i višim zemljopisnim širinama su sezonski poliestrične, dok su ovce u tropskim i subtropskim područjima nesezonalne pri čemu dostupnost i kakvoća hranidbe određuje spolnu aktivnost. Što je viša zemljopisna širina na kojoj se drže ovce, veći je svjetlosni učinak na sezonost i kraće je trajanje spolne aktivnosti, tj. period anestrusa je dulji (Rosa i Bryant, 2003.). Fotoperiod je najznačajniji čimbenik u regulaciji sezonosti spolnoga ciklusa u ovaca i njezine varijabilnosti s obzirom na zemljopisnu širinu. Njegov učinak nadopunjuju i ostali čimbenici poput temperature okoliša, hranidbe i socijalnog ponašanja u stadu. U umjerenom podneblju fotoperiod je odlučujući faktor, dok ostali okolišni čimbenici mogu uvjetovati samo nastup i trajanje perioda anestrusa (Hafez, 1952.). Prihvaćeni model koji objašnjava utjecaj fotoperioda na sezonost objašnjava da kao posljedica dugih dana u periodu anestrusa, sustav hipotalamus-hipofiza uključen u sekreciju LH, postaje izrazito osjetljiv na negativnu povratnu spregu od strane steroidnih hormona (Legan i Karsh, 1979.). Mehanizmi uključeni u ovu regulaciju nisu u potpunosti razjašnjeni, međutim poznato je da je melatonin, izlučen tijekom noćnih sati, odgovoran za prenošenje informacije o trajanju dana reproduktivnoj vezi hipotalamus-hipofiza-jajnici, mijenjajući pritom pulzatilnu sekreciju LH (Rosa i Bryant, 2003.).

Varijacije u sezonosti spolnoga ciklusa, osim u ovaca, zamijećene su i u ovnova, iako slabije izražene, poput promjena u aktivnosti spolnih žlijezda, spolnom ponašanju, gametogenezi te težini i volumenu testisa (Schanbacher i Lunstra, 1976., Lincoln i Davidson, 1977., Ortavant i sur., 1985.). Početak i trajanje sezone ovaca u našem istraživanju potvrđuju i vrijednosti koncentracije testosterona i orhidometrije u ovna, koji bilježe značajniji porast testosterona tijekom kolovoza i rujna te nagli pad u prosincu, dok opseg skrotuma raste već od lipnja, ali postupno opada krajem zime i u proljeće što su potvrdili Pelletier i Almeida 1987. godine. Navedeni rast opsega skrotuma prije porasta koncentracije testosterona se dijelom može pripisati i porastu jutarnjih temperatura tijekom mjerenja opsega, a objašnjeno je mehanizmom termoregulacije testisa (Cergolj i Samardžija, 2006.).

Kod četiri ovce 24. lipnja 2011. godine zabilježen je porast koncentracije progesterona koji se tijekom sljedećih uzorkovanja krvi nije održao, a uslijedio je nedugo nakon transporta životinja na Fakultet s Obiteljskog gospodarstva Flanjak. Uzrok tome mogao bi biti stres životinja zbog transporta i nove okoline, iako o specifičnom jednokratnom porastu progesterona nakon stresa nema podataka u dosadašnjoj literaturi.

Tri mjeseca prije ulaska u sezonu 2012. godine, hranidba sijenom je nadopunjena potpunom krmnom smjesom za ovce pa se pretpostavlja da je zbog poboljšanja kondicije početak sezone nastupio u prosjeku 19 dana ranije u odnosu na 2011. godinu. Dosadašnja istraživanja na ovu temu pokazala su da ovce s kvalitetnom hranidbom odgovaraju brže na početak sezone, a mogu imati i povećani broj ovuliranih jajnih stanica (Keisler i Buckrell, 1997.). Ovce s kvalitetnom hranidbom imaju bolju tjelesnu kondiciju (Engl. *Body condition score* - BCS), a pokazalo se da tjelesna kondicija direktno utječe na aktivnost

hipotalamusa i izlučivanje GnRH (Rhind i sur., 1989.). Na rast folikula hranidba utječe putem razine glukoze u samoj ovarijskoj tekućini te koncentracija metaboličkih hormona poput inzulina sličnoga faktora rasta (Engl. IGF-I – *insulin-like growth factor*) i leptina. Kao posljedica već kratkotrajne pojačane hranidbe raste koncentracija navedenih hormona, posebice leptina, povećava se osjetljivost receptora na gonadotropine i omogućava daljnji rast i sazrijevanje folikula (Vinoles i sur., 2005.).

Spolni ciklus ovce općenito ima raspon između 14 i 18 dana s prosječnom duljinom između 16,5 -17,5 dana (Hafez, 1952., Asdell, 1964.). U našem istraživanju trajanje spolnog ciklusa u ovaca ličke pramenke je u prosjeku iznosilo 17,2 dana, što je u skladu s već spomenutim navodima literature. Trajanje folikularne faze u ovaca iznosi 2-3 dana, a lutealne 14-15 dana (Gordon, 1997.). Našim istraživanjem određeno je prosječno trajanje lutealne faze u ličke pramenke od 13,8 dana, a folikularne 3,4 dana, što odgovara podacima iz literature.

Maksimalna koncentracija preovulatornog LH varira od ovce do ovce, ali trajanje LH vala iznosi 8-12 sati (Cunningham, 1975., Legan i Karsh, 1979.). U našem istraživanju prosječno trajanje LH vala iznosilo je 12,4 sati s rasponom od 8 do 16 sati. Prema uputama proizvođača imunoenzimnog testa (ELISA) LH DETECT® (INRA; Francuska) za ovce, propisano je uzorkovanje krvi svaka četiri sata kako bi se sa sigurnošću mogao zabilježiti porast LH, odnosno "LH peak". Prema našem istraživanju zaključili smo da bi preovulatorni LH val zabilježili i uzorkovanjem krvi svakih osam sati, što bi smanjilo broj uzorkovanja krvi po ovci, a time i troškove samog uzorkovanja i detekcije LH.

Zaključci

Na osnovu dobivenih podataka o koncentraciji progesterona zaključili smo da sezona spolne aktivnosti započinje

krajem srpnja. Većina ovaca u pokusu ulazi u sezonu krajem kolovoza i tijekom rujna, a sa spolnom aktivnošću nastavlja sve do prosinca. Vrijednosti koncentracije testosterona i orhidometrije u ovna bilježe značajniji porast testosterona tijekom kolovoza i rujna te nagli pad u prosincu, dok opseg skrotuma raste već od lipnja, ali postupno opada krajem zime i u proljeće. Kao posljedica pojačane hranidbe potpunom krmnom smjesom za ovce, tri mjeseca prije ulaska u sezonu 2012. godine te posljedično poboljšanja kondicije, početak sezone nastupio je u prosjeku 19 dana ranije u odnosu na 2011. godinu.

Trajanje spolnog ciklusa u ovaca ličke pramenke je u prosjeku iznosilo 17,2 dana. Određeno je prosječno trajanje lutealne faze u ličke pramenke od 13,8 dana i folikularne faze 3,4 dana. Prosječno trajanje LH vala iznosilo je 12,4 sati s rasponom od 8 do 16 sati te je za njegovu detekciju dostatno uzorkovanje krvi svakih osam sati.

Sažetak

Cilj našeg istraživanja bio je određivanje fizioloških posebnosti spolnog ciklusa i rasplodne sezone ovaca pasmine lička pramenka. U tu svrhu uzorkovana je krv ovcama i ovnu te rađena orhidometrija ovna u periodu od 10. 6. 2011. do 05. 09. 2012. godine radi utvrđivanja sezonosti. U periodu od 10.–31. listopada 2012. godine uzorkovana je krv ovaca s ciljem određivanja duljine trajanja spolnoga ciklusa s time da je estrus ovaca prethodno sinkroniziran dvokratnom i.m. aplikacijom (u razmaku od 12 dana) sintetičkog analoga prostaglandina F_{2α} (Estrumate®, cloprostenol) u dozi od 75 µg. Koncentracija progesterona i testosterona u serumu je analizirana pomoću automatskog sistema Immulite® One. Analiza LH rađena je pomoću Imunoenzimnog testa (ELISA). Statistička analiza podataka načinjena je pomoću programskog paketa SAS (Statistical Analysis Software) 9.1.3. Na osnovu dobivenih podataka o koncentraciji progesterona zaključili smo da sezona spolne aktivnosti započinje krajem srpnja. Većina

ovaca u pokusu ulazi u sezonu krajem kolovoza i tijekom rujna, a nastavlja sa spolnom aktivnošću sve do prosinca. Vrijednosti koncentracije testosterona i orhidometrije u ovna bilježe značajniji porast testosterona tijekom kolovoza i rujna te nagli pad u prosincu, dok opseg skrotuma raste već od lipnja, ali postepeno opada krajem zime i u proljeće. Kao posljedica pojačane hranidbe potpunom krmnom smjesom za ovce, tri mjeseca prije ulaska u sezonu 2012. godine, i poboljšanja kondicije, početak sezone nastupio je u prosjeku 19 dana ranije u odnosu na 2011. godinu. Trajanje spolnog ciklusa u ovaca ličke pramenke je u prosjeku iznosilo 17,2 dana. Određeno je prosječno trajanje lutealne faze u ličke pramenke od 13,8 dana, a folikularne 3,4 dana. Prosječno trajanje LH vala iznosilo je 12,4 sati s rasponom od 8 do 16 sati te je za njegovu detekciju dostatno uzorkovanje krvi svakih osam sati.

Ključne riječi: lička pramenka, sezonost, spolni ciklus, LH, progesteron

Literatura

1. Anon. (2003): SAS Institute Inc., SAS Users Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC.
2. ASDELL, S. A. (1964): Patterns of Mammalian Reproduction, Cornell University Press, Ithaca, New York. Compendium of Species-specific data, pp. 371-374.
3. BARAČ, Z., B. MIOČ, V. PAVIĆ i V. SUŠIĆ (2007): Uzgoj izvornih pasmina ovaca i koza u Republici Hrvatskoj. Konferencija o izvornim pasminama i sortama kao dijelu prirodne i kulturne baštine – pod pokroviteljstvom Vlade Republike Hrvatske, Šibenik, 13.-16. studenog 2007., Knjiga sažetaka/Radna verzija, str. 12-13.
4. CERGOLJ, M. i M. SAMARDŽIJA (2006): U: Veterinarska andrologija. Umjetno osjemenjivanje ovaca. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 122-126.
5. CHEMINEAU, P., MALPAUX, B., DELGADILLO, J. A., GUÉRIN, Y., RAVAUULT, J. P., THIMONIER, J. and J. PELLETIER (1992): Control of sheep and goats reproduction: use of light and melatonin. Anim. Reprod. Sci. 30, 157-184.
6. CUMMING, I. A., BROWN, J. M., BLOCKEY, M. A., WINFIELD, C. G., BAXTER, R. and J. R. GOODING (1971): Consistency of interval between luteinizing hormone release and ovulation in the ewe. J. Reprod. Fertil. 24, 134-135.
7. CUNNINGHAM, N. F., A. M. SYMONS and N. SABA (1975): Levels of progesterone, LH and FSH in the plasma of sheep during the oestrus cycle. J. Reprod. Fertil. 45, 177-180.
8. GOMEZ-BRUNET, A. and A. LOPEZ-SEBASTIAN (1991): Effect of season on plasma concentration of prolactin and cortisol in pregnant, non pregnant and lactating ewes, Anim. Reprod. Sci. 26, 251-268.
9. GORDON, I. (1997): Controlled reproduction in Sheep and Goats. The Ewe's Oestrus Cycle and Seasonal Breeding Activity, CAB International, University Press, Cambridge, UK, pp. 53-85.
10. HAFEZ, E. S. E. (1952): Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. J. Agric. Sci. Camb. 42, 189-265.
11. HEAPE, W. (1990): The sexual seasons of mammals. Quart. J. Micro. Sci. 44, 1-44.
12. KEISLER, D. H. and B. C. BUCKRELL (1997): Current therapy in large animal theriogenology 1st. edition. Chapter 88. Breeding strategies. Edited by Robert S. Youngquist. Pp. 649-661.
13. LEGAN, S. J. and F. J. KARSH (1979): Neuroendocrine regulation of the oestrus cycle and seasonal breeding of the ewe. Biol. Reprod. 20, 74-85.
14. LINCOLN, G. A. and W. DAVIDSON (1977): The relationship between sexual and aggressive behaviour, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams, and the influence of photoperiod. J. Reprod. Fertil. 49, 267-276.
15. MATHEWS, L. R., A. E. ULJEE, K. J. BREMNER, A. M. PAINTING, L. R. CATE and J. F. SMITH (1991): Development of a self-drafting system for oestrus ewes. Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production 51, pp. 315-318.
16. MILOVANOVIĆ, A., T. BARNA, T. LAZAREVIĆ, M. SAVIĆ, D. MILANOV I N. MAKSIMOVIĆ (2012): Progesteronski profil sjeničke ovce i vansezonski pripust, Reprodukcijska domaćih životinja I bolesti novorođenčadi, 04.-07.10.2012., Divčibare, Srbija, str. 137-141.
17. MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE, RIBARSTVA I RURALNOG RAZVOJA (2010): Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj, siječanj 2010, 4. Popis izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja na području republike Hrvatske, str. 15-19.
18. MULC, D., D. JURKOVIĆ, G. DUVNJAK, T. SINKOVIĆ, J. DAUD, N. LJEŠIĆ, M. ŠPEHAR i M. DRAŽIĆ (2012): Godišnje izvješće 2011, Ovcarstvo, kozarstvo i male životinje, Republika Hrvatska, Hrvatska Poljoprivredna Agencija, izvješće za 2011. godinu, Križevci 2012, str. 7-32.
19. ORTAVANT, R., J. PELLETIER, J. P. RAVAUULT, J. THIMONIER, P. VOLLAND-NAIL (1985): Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. Oxford Rev. Reprod. Biol. 7, 306-345.
20. PELLETIER, J. and G. ALMEIDA (1987): Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de-France rams. J. Reprod. Fertil. Suppl. 34, 206-345.
21. RHIND, S. M., S. McMILLEN, W. A. C. MCKELVEY, F. F. RODRIGUEZHERREJON and A. S. McNEILLY (1989): Effect of the body condition of ewes on the secretion of LH and FSH and the pituitary response to gonadotrophin-releasing hormone. J. Endocrinol. 120, 497-502.

22. ROBIĆ, Z., B. LIKER and V. RUPIĆ (1992): Duration of anoestrus in Pramenka and Romanov ewes in Yugoslavia. *J. Anim. Sci.* 70, 13-17.
23. ROSA, H. J. D. and M. J. BRYANT (2003): Seasonality of reproduction in sheep. *Small Rumin. Res.* 48, 155-171.
24. SAMARDŽIJA, M., D. ĐURIČIĆ, T. DOBRANIĆ, M. HERAK i S. VINCE (2010): U: Rasplodivanje ovaca i koza. Fiziologija rasplodivanja. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 45-117.
25. SCHANBACHER, B. D. and D. D. LUNSTRA (1976): Seasonal changes in sexual activity and serum levels of LH and testosterone in Finnish Landrace and Suffolk rams. *J. Anim. Sci.* 43, 644-650.
26. UREMOVIĆ, Z., M. UREMOVIĆ, V. PAVIĆ, B. MIOČ, S. MUŽIĆ i Z. JANJEČIĆ (2002): U: Stočarstvo. Ovčarstvo. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 359-401.
27. VINOLES, C., M. FORSBURG, G. B. MARTIN, C. CAJARVILLE, J. REPETTO and A. MEIKLE (2005): Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction* 129, 299-309.

Determination of Physiological Particularities of the Sexual Cycle and Breeding Season of Pramenka Breed

Silvijo VINCE, DVM, PhD, Assistant Professor, Juraj GRIZELJ, DVM, PhD, Associate Professor, Branimira ŠPOLJARIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Hrvoje VALPOTIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Maja PLATIŠA, DVM, Guernsey Islands, United Kingdom; Dražen ĐURIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Veterinary Practice Đurđevac, Croatia; Foteini SAMARTZI, DVM, PhD, Full Professor, Hellenic Agriculture Organization-Demeter, Thessaloniki, Greece; Velimir BERTA, DVM, Veterinary Practice Varaždin, Croatia; Nikola ROŠIĆ, DVM, Veterinary Practice Jastrebarsko, Croatia; Boris STOJANOV, DVM, Veterinary Center Strumica, Macedonia

The objective of this study was to determine the physiological characteristics and particularities of the sexual cycle and breeding season of the Pramenka sheep breed - Lika strain. For this purpose, during the period from 10 June 2011 to 05 September 2012, blood was sampled from sheep and one ram and orchidometry performed on the ram to determine reproductive seasonality. In the period from 10-31 October 2012, sheep blood was sampled to determine the duration of sexual cycle, in which oestrus was previously synchronized with i.m. application (in a 12-day interval) of a synthetic analogue of prostaglandin F_{2α} (Estrumate[®], cloprostenol) in a dose of 75 mg. Concentrations of progesterone and testosterone were analyzed using the automatic system Immulite[®] One. Analysis of the LH was performed using ELISA (ELISA). Statistical analysis was conducted using the software package SAS (Statistical Analysis Software) 9.1.3. The results of progesterone concentrations indicated that the sexual activity season begins

in late July. Most sheep in the study entered the season in late August and in September, and continued with sexual activity until December. Concentrations of testosterone and ram orchidometry recorded a significant increase during August and September and a sharp decline in December, while the girth of the scrotum increased beginning in June, and gradually declined in late winter and spring. As a consequence of increased feeding with complete feed three months before the start of the season in 2012, the physical condition of sheep was improved and the season started on average 19 days earlier than in 2011. The average duration of oestrus in sheep was 17.2 days. The average length of the luteal phase in the Pramenka breed - Lika strain was 13.8 days, and the follicular phase 3.4 days. The average duration of the LH wave was 12.4 hours, with a range of 8 to 16 hours, and therefore, adequate blood sampling every eight hours is sufficient for its detection.

Key words: *Pramenka breed - Lika strain, Seasonality, Sexual cycle, LH, Progesterone*