

Fiziologija rasplodivanja kamelida - Biotehnologija rasplodnje, gravidnost i porodaj II. dio



Dražen Đuričić*, Iva Kilvain i Marko Samardžija

Sažetak

Iako kamelidi nisu gospodarski značajne životinje i nisu znatno zastupljeni u Hrvatskoj, oni predstavljaju atrakciju pa je sve veći trend uzgoja ovih životinja kao kućnih ljubimaca, posebice južnoameričkih kamelida; ljama i alpaka. U prirodnim uvjetima rasplodna učinkovitost kamelida je relativno niska. Kamelidi su sezonski poliestrične životinje. Ženke imaju induciranu ovulaciju koja je inducirana kopulacijom. Polučivanje sjemena sastoji se od korištenja umjetne vagine (sa suženjem) koja se nalazi unutar drvenog fantoma u sjedećem položaju. Primjena asistirane reproduktivne tehnologije, poput umjetnog osjemenjivanja (UO) i multiple ovulacije i embriotransfera (MOET), proizvodnje zametaka *in vitro* (sazrijevanje, oplodnja i uzgoj) ili drugih biotehnologija (kloniranje i transgeneza) nisu u široj uporabi kao rutinski uzgojni postupci u kamelida. Tehnologije kao što su UO i MOET se primijenjuju u uzgojnim programima za poboljšanje proizvodnih karakteristika različitih vrsta domaćih životinja. Ove se tehnike ne mogu izravno koristiti u kamelida, jer je fiziologija rasplodnje različita u odnosu na ostale domaće životinje. Danas se za izazivanje multiple ovulacije na jajnicima deve najčešće

koristi kombinacija svinjskog FSH (pFSH) i konjskog korionskog gonadotropina (eCG). Bolji je uspjeh koncepcije ako primateljice ovuliraju 24 h nakon davateljca. Primateljice se moraju odabrati iz skupine ženki s folikulom promjera 13 - 17 mm, a kojima se aplicirao GnRH ili hCG 24 h nakon parenja davateljce. Zametci se ispiru transcervikalno 7. dan nakon ovulacije. Nakon odabira zametaka na temelju morfoloških karakteristika, aspiriraju se u pajetu i prenose u pripremljenu primateljicu (6. dan nakon ovulacije), najčešće u lijevi rog maternice. Generacijski interval je relativno dug zbog kasne zrelosti i relativno dugog razdoblja gestacije pri čemu rađaju samo jedno mlado. Gravidnost u deva traje u prosjeku 365-410 dana, u ljama 345±15 dana i u alpaka 330±10 dana. Najčešće je gravidan lijevi rog maternice. Kao i u ostalih sisavaca, za održavanje gravidnosti bitno je tzv. majčinsko prepoznavanje gravidnosti kojim se omogućuje preživljavanje zametka. Porodaj se dijeli u tri osnovna stadija: stadij otvaranja (2 - 6 sati), stadij istiskivanja ploda (10 - 45 minuta) i stadij izbacivanja posteljice. Zbog relativno dugog vrata i nogu te činjenice da se gotovo svi fetusi rađaju u prednjem podužnom sisanju, često je prisutna fleksija vrata i/ili

Dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ*, dr. med. vet., docent, (dopisni autor, e-mail: djuricic@vet.hr), Veterinarska stanica Đurđevac, Hrvatska; Iva KILVAIN, dr. med. vet., Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Rijeka, Hrvatska; dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

ekstremiteta. Posteljica (*placenta*) kamelida je prema slojevima *placenta epitheliochorialis* (*microcotyledonaria*), a prema rasporedu sveza *placente materno* i *placente fetalis*, *placenta diffusa*. Važno je dobro poznavanje tehnologije uzgoja i pravilne ishrane kako bi se zdravlje i reprodukcija kamelida održali na

visokoj razini. Obzirom na dugi generacijski interval bitno je sve više pažnje usmjeravati na poboljšanje biotehnoloških zahvata i ranu ultrazvučnu dijagnostiku gravidnosti.

Ključne riječi: kamelidi, biotehnološki zahvati, gravidnost, porođaj

Uvod

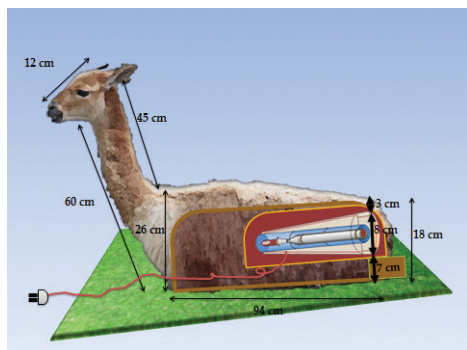
U kamelide ubrajamo deve starog Svijeta prilagođene životu u pustinjama (jednogrba i dvogrba deva) i deve novog Svijeta ili južnoameričke kamelide prilagođene životu na visoravnima Anda s četiri pripadajuće vrste (Wheeler, 2012.): dvije divlje (gvanako i vikunja) te dvije domaće vrste (ljama i alpaka). Iako ova porodica egzotičnih životinja, nije toliko zastupljena u Hrvatskoj, sve je veći trend uzgoja ovih životinja kao kućnih ljubimaca, posebice ljama i alpaka (Đuričić i sur., 2020.). U prirodnim uvjetima rasplodna učinkovitost kamelida je relativno niska, a fiziologija rasplodnje se razlikuje u usporedbi s rasplodnjom drugih domaćih životinja. Generacijski interval je relativno dug zbog kasne zrelosti i relativno dugog razdoblja gestacije pri čemu rađaju samo jedno mladunče. Osim toga, kamelidi su sezonski poliestrične životinje, a ovulacija

je inducirana parenjem (El-Wishy, 1988.). Parenje se odvija u sjedećem stavu, a ejakulat kamelida je malog volumena, izrazito viskozno te sadrži nisku koncentraciju spermija (Đuričić i sur., 2020.). Obzirom na specifičnost fiziologije rasplodnje primjena biotehnoloških zahvata u svrhu poboljšanja rasplodne učinkovitosti u kamelida se sve više razvija, a primjenjuju se novije spoznaje i načini koji se razlikuju od dosadašnjih spoznaja primjenjenih u drugih domaćih životinja (Skidmore, 2005., El-Hassanien i sur., 2010., El-Bahrawy i sur., 2015.).

Biotehnologija rasploda

Asistirana reprodukcija podrazumijeva zahvate kojima u kontroliranim uvjetima rasplodujemo životinje, utječemo na poboljšanje plodnosti i odabiremo poželjnu genetiku prema željenim proizvodnim osobinama (Mapletoft i Hasler, 2005.). Pod asistiranom reprodukcijom podrazumijevamo postupke vezane uz manipulaciju gametama ili zametcima: umjetno osjemenjivanje (UO), multipla ovulacija i embriotransfer (MOET), proizvodnja zametaka *in vitro*, dijeljenje zametaka, kloniranje i transgeneza.

Umjetno je osjemenjivanje desetljećima najisplativiji i najkorišteniji način širenja poželjnog genoma u stadima domaćih životinja, dok su multipla ovulacija i embriotransfer tek posljednjih 30 godina postale međunarodne prihvaćene metode rasplodnje. Ovi postupci omogućuju brz genetski napredak, skra-



Slika 1. Prikaz drvenog fantoma za dobivanje sjemena u alpaka (Đuričić, 2018.)

ćenje generacijskog intervala, kontrolu zaraznih bolesti i smanjenje proizvodnih troškova kako u uzgojima krava (Lojkić i sur., 2018.), tako i na velikim farmama kamelida (Skidmore, 2005). Uporaba UO nije u širokoj primjeni u kamelida, a prva istraživanja i napredak savladavanja tehnikom je postignut prvo u dvogrskih deva (Elliot, 1961.) te u ljama i alpaka (Quispe, 1996.). Dobivanje sjemena u kamelida je zbog sjedećeg načina kopulacije, trajanja kopulacije, visoke konzistencije dobivenog sjemena, male količine ejakulata i relativno niske koncentracije spermija u ejakulatu otežano (Garnica i sur., 1993., 1995., Bravo i sur., 2002., Deen i sur., 2003.). Za dobivanje sjemena najčešće se upotrebljavaju umjetne vagine sa suženjem (imitacija grijka maternice) koje se nalaze unutar ležećeg drvenog fantoma presvučenog kožom (Slika 1.) ovisno o kojoj se vrsti kamelida radi (Bravo i sur., 1997.a,b, El-Hassanien i sur., 2010., El-Bahrawy i sur., 2015., Đuričić i sur., 2018.). Sjeme za UO se može upotrijebiti svježje ili dubokosmrzuto (Lichtenwalner i sur., 1996., Bravo i sur., 2000.b, Deen i sur., 2003.). Postoje brojni problemi koji otežavaju razrjeđivanje i pripremu doza za UO (Von Baer i Hellemann, 1999., Bravo i sur., 2000.a, 2002., Watson, 2000., Flores i sur., 2002.). Danas se za izazivanje multiple ovulacije jajnika u deva najčešće koristi kombinacija svinjskog FSH (pFSH) i konjskog korionskog gonadotropina (eCG) čime se u davateljica dobije u prosjeku više od dvadesetak folikula, ali i više zametaka od prijašnjih metoda. Najbolji rezultati se postižu kod MOET-a u deva ako primateljice ovuliraju 24 h nakon davateljica (Cooper i sur., 1992., McKinnon i sur., 1994., Skidmore i sur., 2002., Vettical i sur., 2016.). Primateljice se odabiru iz skupine životinja s folikulom veličine 13-17 mm, a kojima se aplicirao GnRH ili hCG 24 h nakon parenja davateljica. Zametci se ispiru transcervikalno 7. dan nakon ovulacije i ocjenjuju na osnovu morfoloških kriterija.

Nakon odabira zametaka aspiriraju se u pajetu i apliciraju pomoću inseminatora u pripremljenu primateljicu (6. dan nakon ovulacije), najčešće u lijevi rog maternice. Neke deve mogu postati refraktorne na hormone pa izostane multipla ovulacija (Anouassi i Tibary, 2013., Vettical i sur., 2016.). Modificirani protokoli MOET-a se koriste u ljama i alpaka (Aller i sur., 2002., Sumar, 2013.). Za *in vitro* proizvodnju, jajne stanice se aspiriraju iz folikula ili se uzimaju odmah nakon ovulacije (Khatir i sur., 2004.). Potom se vrši dozrijevanje (engl. *in vitro* maturati-on –IVM) ako su uzete nezrele jajne stanice, oplodnja (engl. *in vitro* fertilization – IVF) ili daljnji uzgoj do stadija morule/blastociste (engl. *in vitro* culture – IVC) pod kontroliranim uvjetima (Del Campo i sur., 1994., Kafi i sur., 2005., Anouassi i Tibary, 2013.).

Fiziologija gravidnosti

Svi naponi rasplodnje kamelida vezani uz rasplodnju u prirodnim uvjetima ili uz primjenu asistiranu reprodukcije su usmjereni prema cilju uspješne koncepcije, gravidnosti bez komplikacija i na kraju prema dobivanju potomka sposobnog za daljnji rast i razvoj.

Gravidnost je pojam koji označava razdoblje od trenutka oplodnje jajne stanice, tj. od začeca do porođaja. Tijekom ovog razdoblja organizam majke prolazi kroz niz promjena čiji je cilj prihvaćanje i razvoj zametka i ploda. Zametak (*embrij*) je rani stadij razvoja potencijalnog potomka koji se ne razlikuje unutar različitih vrsta. Plod (*fetus*) je stadij razvoja u kojem su uočljive odlike vrste kojoj potomak pripada. Oba navedena razvojna stadija odvijaju se u maternici (Đuričić, 2017.). Generacijski interval u kamelida je puno duži u odnosu na veličinom slične životinjske vrste. Za razliku, od primjerice ovaca i koza, u kojih gravidnost traje 5 mjeseci, trajanje gravidnosti u južnoameričkih kamelida

je u prosjeku oko 11,5 mjeseci. Kamelidi su i uniparne životinje, a trajanje gravidnosti je biološki promjenjivo i genetski nasljedno. Odstupanja od prosječne vrijednosti trajanja gravidnosti nastaju zbog promjena u hranidbi, načinu držanja, klimi i sezoni. Gravidnost jednogrobrbe deve traje 365 - 410 dana (Tibary i Anouassi, 2001., Purohit, 2012.), u ljava 345±15 dana (Leon i sur., 1990.), a u alpaka 330±10 dana (Davis i sur., 1997., Hardefeldt i sur., 2013.). U 98 % deva gravidni rog je lijevi, ovulacija s dvije jajne stanice pojavljuje se samo u 14 % deva, dok se porođaj blizanaca javlja u svega 0,4 % slučajeva (Vaughan i Tibary, 2006., Đuričić, 2017.). U trenutku kada je oplodena, jajna stanica se odvaja od epitela ampule jajovoda i putuje prema maternici potpomognuta gibanjem trepetljika, kontrakcijama glatke muskulature i strujanjem jajovodne tekućine. Ostali spermiji, koji nisu sudjelovali u oplodnji podliježu fagocitozi u jajovodu. Nije poznato koliko traje životni vijek spermija, a do ovulacije u deva dolazi oko 30 sati nakon parenja (Suarez i Pacey, 2006.). Embrionalni razvoj počinje odmah nakon oplodnje. Sedmi dan nakon ovulacije zametak ulazi u maternicu (Skidmore i sur., 1996.). Osmi dan dolazi do širenja zametka, tj. do ekspanzije blastociste. U ovom stadiju preživljavanje ranog zametka ovisi o adekvatnoj lutealnoj funkciji, sintezi progesterona i osjetljivosti maternice na progesteron. Biosinteza hormona uvjetuje spolni ciklus životinje (England i sur., 1971., Musa i Abusineina, 1978., Smith i sur., 1994., Sghiri i Driancourt, 1999.), a u gravidnih se životinja razlikuje od one u reproduktivnoj dobi (Gamulin i sur., 2018). Majčino prepoznavanje gravidnosti izuzetno je bitno u ranom embrionalnom razvoju, a dostatna sekrecija progesterona omogućuje embriogenezu i nidaciju zametka u endometriju. Osnova majčinog prepoznavanja gravidnosti je sprječavanje izlučivanja PGF_{2α}, odnosno

sprječavanje luteolize (Skidmore i sur., 1998., Vyas i sur., 2015.). Uočeno je da u deva velike količine estradiola i estrona, koje zametak počinje izlučivati desetog dana po ovulaciji, sudjeluju u majčinskom prepoznavanju gravidnosti (Skidmore i sur., 1994.).

Rana je dijagnostika gravidnosti vrlo važan preduvjet za sprječavanje slabe plodnosti i pobačaja (Parraguez i sur., 1997.). U kamelida, sezonski poliestričnih životinja, kao prvi znak gravidnosti uočava se izostanak estrusa u sezoni. Gravidne životinje se smiruju i povećava im se apetit. Za sigurnu dijagnostiku razrađeni su specijalni postupci i metode dijagnostike gravidnosti koje smo podijelili na kliničke, histološke i laboratorijske metode. Kliničke metode dijele se na vanjske (inspekcija, palpacija), unutarnje (rektalna, vaginalna i laparoskopna pretraga) i ultrazvučne pretrage gravidnosti (Đuričić, 2017.).

Metoda Beduina je jedna od primitivnijih metoda za dijagnostiku gravidnosti deva. Ova metoda se temelji na promatranju ponašanja deva tijekom sezone. Četrnaesti dan nakon pripusta deva se privodi mužjaku. Ako ona ne pokazuje zainteresiranost za parenjem, može se pretpostaviti da je gravidna. Slično prethodnom, narodi Anda su koristili tzv. „test pljuvanja“ za provjeru gravidnosti ženki u stadu ljava i alpaka (Đuričić, 2017., 2018.). Ove metode su nesigurne zbog mogućih lažno pozitivnih ili negativnih rezultata. Mlađe ženke mogu „popustiti“ upornom mužjaku, iako su ostale gravidne prije dva tjedna. Od unutarnjih metoda dijagnostike gravidnosti, u deva se koristi provjera cervikalne sluzi. Sluz je tijekom estrusa manje viskozna, dok u ranoj fazi gravidnosti postaje sve rjeđa i bjelkasta, a do drugog mjeseca gravidnosti u potpunosti nestaje. Tijekom folikularne faze ciklusa u negravidnih deva pH vrijednost cervikalne sluzi varira između 6,74 i 7,36, dok tijekom gravidnosti

pH iznosi 8,2, tj. postaje lužnatija (Đuričić, 2017.). Cuboni test i test s barij-kloridom su neinvazivni kemijski testovi na gravidnost koji su u nekoliko istraživanja dijagnostike gravidnosti u deva pokazali točnost od 70,5 %, jer su lažno pozitivni u negravidnih ženki tijekom estrusa (Fedorova i sur., 2016.). Od laboratorijskih metoda ustvrđivanja gravidnosti najčešće se upotrebljava progesteronski test (Szenci i sur., 2018.) kao i u većine domaćih životinja. Razina progesterona u krvnom serumu veća od 1 ng/mL upućuje na prisutnost žutog tijela (CL) na jajniku, tj. 2 ng/mL u ljama i alpaka (Bravo i sur., 1996., Raggi i sur., 1999.).

Najpouzdanija metoda dijagnostike gravidnosti je ultrazvučna dijagnostika (UZV). Već 18.-tog dana gravidnosti može se zamijetiti manja količina tekućine u lumenu maternice (Schels i Mostafawi, 1978., Monaco i sur., 2015.). Zametak se prvi puta zamijeti 20. dan, a otkucaji srca ploda ultrazvučno se mogu vidjeti od 22.-25. dana. Dijelovi ploda pravih deva mogu se ultrazvučno uočiti 55. dan (Schels i Mostafawi, 1978., Zhao, 1994.), dok se u ljama i alpaka fetus može dijagnosticirati ultrazvučno 45. dana gravidnosti (Grazitua, 2001., Herrera, 2002., Đuričić, 2017., 2018.).

Porođaj

Porođaj je pojam koji označava fiziološki završetak gravidnosti, kada razvijeni, zreli plod kroz porođajni kanal napušta organizam majke kako bi izvan maternice nastavio svoj rast i razvoj. Maternica roditelje postupno postaje sve osjetljivija na različite podražaje, reagira kontrakcijama i majka počinje tretirati plod kao strano tijelo. Nadalje i sam plod, zbog svoje fiziološki dosegnute veličine, počinje imati sve manje mjesta u maternici te izaziva kontrakcije maternice, kako bi izašao van. Dolazi do niza hormonalnih promjena kako bi se organizam majke

pripremio za porođaj. Znaci približavanja porođaja očituju se edemom stidnih usana i stidnice, povećanjem mliječne žlijezde, promjenama u ponašanju, nemirom (često ustajanje i lijeganje), ležanjem na boku, ogledanjem na rep, izdvajanjem od ostatka stada, učestalim mokrenjem (Sharma i Vyas, 1970., Musa, 1983.). Zbog serozne infiltracije, nekoliko dana prije porođaja, počinje se otapati tzv. sluzni čep. Pod kraj gravidnosti dolazi do naglog porasta razine estrogena u krvi i do istovremenog pada razine progesterona, jer ga CL prestaje izlučivati. Paralelno s tim pojavama povisuje se razina relaksina, kojeg proizvode CL i posteljica, a koji utječe na širenje zdjelčnih ligamenata i ostalih dijelova porođajnog kanala (Al-Ekna, 1996.).

Tijek porođaja se u pravih sisavaca dijeli na tri stadija: stadij otvaranja, stadij istiskivanja ploda i stadij izbacivanja posteljice (Đuričić, 2017., 2018.). Većina porođaja južnoameričkih kamelida odvija se danju od 8 sati ujutro do 14 sati poslije podne. Ovo je prilagodba južnoameričkim kamelidama na visokim Andama omogućila da opstanu, jer bi se mladunče moglo pothladiti i uginuti kad bi ženka rađala noću (Đuričić, 2018.). Tijekom stadija otvaranja započinju kontrakcije maternice, a plod iz fetalnog položaja prelazi u intrapartalni položaj. Naime, tijekom intrauterinog razvoja, plod se u maternici smješta u položaj kojim je najbolje prilagođen prostoru gravidne maternice, a to je prednji ili stražnji podužni situs, bočna pozicija, dok su glava, vrat i ekstremiteti savijeni prema trupu. Kako bi se plod uskladio s osovinom porođajnog kanala, situs ostaje isti, bočna pozicija postaje gornja, a vrat, glava i prednji ekstremiteti se ispruže. Ovakav položaj glave i ekstremiteta dovodi do smanjenja obujma grudnog koša, tj. zdjelčnog pojasa i olakšava njegov prolaz kroz porođajni kanal. Stadij otvaranja traje od 2 - 6 sati. Obično je duži

u prvorotkinja (Đuričić, 2017.). Drugi stadij porođaja je stadij istiskivanja ploda, pri kojem kontrakcije maternice postaju sve jače i učestalije uslijed oslobađanja oksitocina iz hipofize. Naime, estrogen stimulira sintezu $\text{PGF}_{2\alpha}$ u placenti, što izaziva početak kontrakcija maternice i pritisak ploda na cerviks i vaginu čime se potiče oslobađanje oksitocina. Ovu hormonsku kaskadu prouzročenu zajedničkim podražajima od strane majke i ploda nazivamo Fergusonovim refleksom. Kontrakcijama maternice pridružuju se i kontrakcije abdomena. Te naizmjenične kontrakcije maternice i trbušne preše zajedničkim imenom nazivamo trudovima. Trudovi, koji mogu trajati 5-10 sati, pri čemu amnionski mjehur (vodenjak) širi porođajni kanal.

U kamelida ima mnogo manje plodne vode nego u ostalih domaćih životinja slične veličine. Iz porođajnog kanala prvo izlaze ispružene prednje noge i glava, a zatim preostali dio tijela ploda. Pupčana vrpca se otkida sama ili kada deva liže svoje mlado. Većina ženki rađa u stojećem stavu ili, rjeđe u bočnom ležećem stavu. Ovaj stadij u prosjeku traje 30 - 45 minuta. Nakon izlaska ploda, u roku dva sata od porođaja ženka mora izbaciti i posteljicu.

Posteljica (*placenta*) kamelida je prema slojevima *placenta epitheliochorialis (microcotyledonaria)*, a prema rasporedu sveza *placente maternelne* i *placente fetalis, placenta diffusa* (Van Lennep, 1961., 1963.). *Placenta epitheliochorialis* se sastoji od tri sloja maternalnog i tri sloja fetalnog tkiva. *Placenta diffusa* je pojam koji označava da su mikrovili koriona distribuirani po cijeloj površini endometrija (Iturizaga i sur., 2007., Đuričić, 2017., 2018.). Nadalje, treba obaviti pregled posteljice na način da ju se položi na ravnu površinu. Bitno je da je posteljica istisnuta u potpunosti i da na njoj nema lezija (nekroza, upala ili područja bez resica). Fiziološki je da su na dijelu posteljice iz vrhova rogova resice rjeđe raspoređene i manje ih je. Promjena boje posteljice može biti posljedica

upalnog procesa, a edematozne posteljice su obično posljedica dugotrajnih i teških porođaja (Al-Juboori, 2012., Đuričić, 2018.). Mladunče se rađa prekriveno tankom epidermalnom ovojnicom koja, osim tjelesnih otvora prekriva čitavo tijelo. Ta tzv. četvrta plodna ovojnica ima ulogu očuvati toplinu mladuncu sve do uspostave termoregulacije. Pošto južnoamerički kamelidi ne ližu mladunce (jer imaju kratak jezik), epidermalna ovojnica ima važnost i u sušenju mladunaca. U deva koje služe za proizvodnju mlijeka mladunčad se može odbiti najranije s 4 mjeseca. Laktacija u deva traje 9 do 18 mjeseci, a mladunčad u dobi od 3 mjeseca već počinje jesti krutu hranu i pasti travu.

Alpake držane na paši imaju prvi tjedan oko 1,5 litara mlijeka dnevno, a u vrhuncu laktacije oko 2 litre (Martini i sur., 2015.). Mlijeko deva je siromašnije mliječnom mašću i pepelom, a bogatije fosforom i kalcijem, nego kravlje ili kozje mlijeko (Knoess, 1977., Yagil i Etzion, 1980., Đuričić, 2017., 2018.). Razdoblje nakon završetka porođaja i istiskivanja posteljice u kojem nestaju promjene na spolnim organima nastale tijekom gravidnosti i porođaja naziva se puerperij. Vrlo je važno obaviti veterinarski ginekološki pregled 24 - 36 sati nakon porođaja. U južnoameričkih kamelida vaginalni pregled se obavlja spekulom promjera 2 - 5 cm. Fiziološki bi rodница trebala biti cjelovita, bez rana, nagnječenja ili krvarenja, a grljak maternice je često edematozan i crven. Iscjedak iz maternice je prvih dana nakon porođaja neznatan, a nakon 3 - 5 dana uočavaju se lohije (sluzav, gust, bijelo-ružičast iscjedak koji se sastoji od degeneriranih dijelova placente maternelne, krvnog seruma, sluzi iz uterusnih žlijezda, leukocita, eritrocita, krvi iz pupčanog tračka i ostataka fetalnih tekućina). Normalne lohije nemaju mirisa ili mirišu poput svježeg mesa. Krvavi iscjedak iz rodnice, tj. maternice je vidljiv tjedan dana nakon porođaja.

Tijekom puerperija dolazi do involucije, tj. procesa u kojem se spolni organi promijenjeni gravidnošću i porođajem vraćaju u prvobitno stanje. Involucija u ženki južnoameričkih kamelida nastupa vrlo brzo, već deset dana nakon porođaja završeno je oko 80 % involucije maternice (Đuričić, 2018.). Smatra se da bi pod odgovarajućim uvjetima držanja i hranjenja spolni ciklus u pravih deva trebao započeti i nesmetano se odvijati 40 dana nakon porođaja. Ipak, uočeno je da rodilje koje su rodile na vrhuncu sezone (prosinac-veljača) ulaze u spolni ciklus ranije od onih koje su rodile na početku ili na kraju sezone. Također i laktacija ima utjecaj na ponovni početak spolne aktivnosti budući da prolaktin inhibira oslobađanje gonadotropina pa u deva dojilja izostane ovulacija (Nagy i Juhasz, 2012.).

Zaključna razmatranja

Poboljšanje rasploda kamelida trebalo bi biti usmjereno prema uspostavi modernih biotehnoloških protokola (UO, MOET i dr.) i njihovom poboljšanju na temelju najnovijih spoznaja, prema poboljšanju upravljanja rasplodom u skladu s uzgojnim ciljevima te prema uspostavljanju sustava bolje identifikacije plotkinja u nerazvijenim zemljama (Faye, 2018.). Važno je dobro poznavanje tehnologije uzgoja i pravilne ishrane kako bi se zdravlje i reprodukcija kamelida održali na visokoj razini. Obzirom na dugi generacijski interval, na velikim farmama kamelida, bitno je više pažnje usmjeravati na poboljšanje menadžmenta rasploda u prirodnim uvjetima i na rano otkrivanje negravidnih životinja u stadu ultrazvučnom dijagnostikom gravidnosti.

Literatura

1. AL-EKNAH, M. M. (1996): Dilatation of the cervix during periparturient period in the camel (*Camelus dromedarius*). J. Camel Pract. Res. 3, 133-136.
2. AL-JUBOORI, M. (2012): Studies on common reproductive disorders in dromedary camels (*Camelus dromedarius*) in UAE under field conditions. Proceeding of the 3rd ISOCARD, Muscat, Oman.
3. ALLER, J. F., G. E. REBUFFI, A. K. CONCINO and R. H. ALBERIO (2002): Successful transfer of vitrified llama (*Lama glama*) embryos. Anim. Reprod. Sci. 73, 121-127.
4. ANOUASSI, A. and A. TIBARY (2013): Development of a large commercial camel embryo transfer program: 20 years of scientific research. Anim. Reprod. Sci. 136, 211-221.
5. BRAVO, P. W., D. R. STEWART, B. L. LASLEY and M. E. FOWLER (1996): Hormonal indicators of pregnancy in llamas and alpacas. J. Am. Vet. Med. Assoc. 208, 2027-2030.
6. BRAVO, P. W., U. FLORES, J. GARNICA and C. ORDONEZ (1997a): Collection of semen and artificial insemination of alpacas. Theriogenology 47, 619-626.
7. BRAVO, P. W., D. FLORES and C. ORDONEZ (1997b): Effect of repeated collection on semen characteristics of alpacas. Biol. Reprod. 57, 520-524.
8. BRAVO, P. W., M. CCALLO and J. GARNICA (2000a): The effect of enzymes on semen viscosity in llamas and alpacas. Small Rumin. Res. 38, 91-95.
9. BRAVO, P. W., J. A. SKIDMORE, X. X. ZHAO (2000b): Reproductive aspects and storage of semen in Camelidae. Anim. Reprod. Sci. 62, 173-193.
10. BRAVO, P. W., R. MOSCOSO, V. ALARCON and C. ORDONEZ (2002): Ejaculatory process and related semen characteristics. Arch. Androl. 48, 65-72.
11. COOPER, M. J., J. A. SKIDMORE, W. R. ALLEN, S. WENSVOORT, M. BILLAH, M. A. CHAUDHARY and A. M. BILLAH (1992): Attempts to induce and synchronize ovulation and superovulation in Dromedary Camels for embryo transfer. In: Proceedings of the First International Camel Conference, pp.187-191.
12. DAVIS, G. H., K. G. DODDS, G. H. MOORE and G. D. BRUCE (1997): Seasonal effects on gestation length and birth weight in alpacas. Anim. Reprod. Sci. 46, 297-303.
13. DEEN, A., S. VYAS and M. S. SAHANI (2003): Semen collection, cryopreservation and artificial insemination in the dromedary camel. Anim. Reprod. Sci. 77, 223-233.
14. DEL CAMPO, M. R., C. H. DEL CAMPO, M. X. DONOSO, M. BERLAND and R. J. MAPLETOFT (1994): In vitro fertilization and development of llama (*Lama glama*) oocytes using epididymal spermatozoa and oviductal cell co-culture. Theriogenology 41, 1219-1229.
15. ĐURIČIĆ, D. (2017): Camels. Ed. D. Đuričić. Vlastita naklada autora. (In Croatian).
16. ĐURIČIĆ, D., H. VALPOTIĆ and M. SAMARDŽIJA (2018): Mating properties of male alpacas (*Vicugna pacos*, L.) Vet. stn. 49, 37-42. (In Croatian).
17. ĐURIČIĆ, D. (2018): Physiology and pathology of lamas and alpacas. Ed. M. Samardžija. „A je to“ art Podravina, Đurđevac. (In Croatian).

18. ĐURIČIĆ, D., I. KILVAIN and M. SAMARDŽIJA (2020): Physiology of reproduction in camelids - Anatomy of reproductive organs and sexual maturity Part I. *Vet. stn.* 51, 1-10. (In Croatian).
19. ENGLAND, B. G., W. C. FOOTE, A. G. CARDOZO, D. H. MATTHEWS and S. RIERA (1971): Oestrus and mating behaviour in the llama (*Lama glama*). *Anim. Behav.* 19, 722-726.
20. EL-BAHRAWY, K. A., M. A. KHALIFA and S. A. RATEB (2015): Recent advances in dromedary camel reproduction: An Egyptian field experience. *Emir. J. Food Agric.* 27, 350-354.
21. EL-HASSANEIN, E. E., K. A. EL-BAHRAWY and A. A. ZAGLOUL (2010): Artificial insemination and ovulation induction in dromedary she-camel. *Nature Sci.* 8, 203-208.
22. EL-WISHY (1988): A review on reproduction in the male dromedary (*Camelus dromedarius*). *Anim. Reprod. Sci.* 17, 217-241.
23. ELLIOT, F. I. (1961): Artificial insemination of a bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *Int. Zoo Yearb.* 3, 94.
24. FEDOROVA, T., K. BRANDLOVÁ and D. LUKEŠOVÁ (2016): Application of noninvasive pregnancy diagnosis in bactrian camels (*Camelus bactrianus*) using Cuboni reaction and barium chloride test. *J. Zoo Wildl. Med.* 46 355-358.
25. FAYE, B. (2018): The improvement of camel reproduction performances: just a technical question? *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 6, 265-269
26. FLORES, P., J. GARCIA-HUIDOBRO, C. MUNOZ, E. BUSTOS-OBREGON and B. URQUIETA (2002): Alpaca semen characteristics previous to a mating period. *Anim. Reprod. Sci.* 72, 259-266.
27. GARNICA, J., R. ACHATA and P. W. BRAVO (1993): Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Anim. Reprod. Sci.* 32, 85-90.
28. GARNICA, J., E. FLORES and P. W. BRAVO (1995): Citric acid and fructose concentrations in seminal plasma of alpaca. *Small Rumin. Res.* 18, 95-98.
29. GAMULIN, E., M. SAMARDŽIJA, I. BUTKOVIĆ and J. PLEADIN (2018): Biochemical mechanisms of sex hormones synthesis in domestic mammals. *Vet. stn.* 49, 425-438. (In Croatian).
30. GRAZITUA, F. J. (2001): Predication of gestational age by ultrasonic fetometry in llamas (*Lama glama*) and alpacas (*Lama pacos*). *Anim. Reprod. Sci.* 66, 81-92.
31. HARDEFELDT, L. Y., S. D. SEMRAD, P. M. CRUMP, C. CARAGUAL and S. F. PEEK (2013): Effects of Gestational Age on Physical Findings of Immaturity, Body Weight, and Survival in Neonatal Alpacas (2002-2010). *J. Vet. Intern. Med.* 27, 1234-1237.
32. HERRERA, E. A. (2002): Use of fetal biometry to determine fetal age in late pregnancy llamas. *Anim. Reprod. Sci.* 74, 101-109.
33. ITURRIZAGA, D. M., F. T. VERECHIA, T. C. SANTOS, P. P. BOMBONATO, D. G. TEIXEIRA and M. A. MIGLINO (2007): The materno-fetal interface in llama (face in llama (*Lama guanicoe glama*)). *Pesqui. Vet. Brasil.* 27, 221-228.
34. KAFI, M., F. MESBAH, H. NILI and A. KHALILI (2005): Chronological and ultrastructural changes in camel (*Camelus dromedarius*) oocytes during in vitro maturation. *Theriogenology* 63, 2458-2470.
35. KHATIR, H., A. ANOUASSI and A. TIBARY (2004): Production of dromedary (*Camelus dromedarius*) embryos by IVM and IVF and co-culture with oviductal or granulosa cells. *Theriogenology* 62, 1174-1185.
36. KNOESS, K. H. (1977): The camel as a meat and milk animal. *World Anim. Rev.* 22, 39-44.
37. LEON, J. B., B. B. SMITH, K. I. TIMM and G. LECREN (1990): Endocrine changes during pregnancy, parturition and the early post-partum period in the llama (*Lama glama*). *J. Reprod. Fert.* 88, 503-511.
38. LICHTENWALNER, A. B., G. L. WOODS and J. A. WEBER (1996): Seminal collection, seminal characteristics and pattern of ejaculation in llamas. *Theriogenology* 46, 293-305.
39. LOJKIĆ, M., I. GETZ, N. KARAJIĆ, M. SAMARDŽIJA, N. MACĀEŠIĆ, T. KARADJOLE, N. PRVANOVIĆ BABIĆ, G. BAČIĆ, D. ŽELJEŽIĆ and V. MAGAŠ (2018): Application of assisted reproductive technologies in cattle production. *Vet. stn.* 49, 91-104. (In Croatian).
40. MAPLETOFT, R. J. and J. F. HASLER (2005): Assisted reproductive technologies in cattle: a review. *Rev. Sci. Tech.* 24, 393-403.
41. MARTINI, M., I. ALTOMONTE, A. M. DA SILVA SANT'ANA, G. DEL PLAVIGNANO and F. SALARI (2015): Gross, mineral and fatty acid composition of alpaca (*Vicugna pacos*) milk at 30 and 60 days of lactation. *Small Rumin. Res.* 132, 50-54.
42. MCKINNON, A. O., A. H. TINSON and G. NATION (1994): Embryo transfer in dromedary camels. *Theriogenology* 41, 145-150.
43. MONACO, D., B. PADALINO and G. LACALANDRA (2015): Distinctive features of female reproductive physiology and artificial insemination in the dromedary camel species. *Emir. J. Food Agric.* 27, 328-337
44. MUSA, B. E. (1983): Normal parturition in the camel (*Camelus dromedarius*). *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 52, 255-268.
45. MUSA, B. E. and M. E. ABUSINEINA (1978): The oestrous cycle of the camel (*Camelus dromedarius*). *Vet. Rec.* 102, 556-557.
46. NAGY, P. and J. JUHASZ (2012): Fertility after ovarian follicular wave synchronization and fixed-time natural mating compared to random natural mating in dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Anim. Reprod. Sci.* 132, 223-230.
47. PARRAGUEZ, V. H., S. CORTEZ, F. J. GAZITUA, G. FERRANDO, V. MACNIVEN and L. A. RAGGI (1997): Early pregnancy diagnosis in alpaca (*Lama pacos*) and llama (*Lama glama*) by ultrasound. *Anim. Reprod. Sci.* 47, 113-121.

48. PUROHIT, G. N. (2012): Dystocia in camelids: The causes and approaches of management. *Open J. Anim. Sci.* 2, 99-105.
49. RAGGI, L. A., G. FERRANDO, V. H. PARRAGUEZ, V. MACNIVEN and B. URQUIETA (1999): Plasma progesterone in alpaca (*Lama pacos*) during pregnancy, parturition and early postpartum. *Anim. Reprod. Sci.* 54, 245-249.
50. QUISPE, G. (1996): Inseminación artificial en alpacas (*Lama pacos*) con semen diluido a diferentes concentraciones: I Zootec Thesis, Fac. Agron. Zootec., Univ. Nac. San Antonio Abad, Cusco, Peru, pp. 1-103.
51. SCHELS, H. F. and D. J. MOSTAFAWI (1978): Ultrasonic pregnancy diagnosis in the camel. *Anim. Reprod. Sci.* 1, 19-23.
52. SGHIRI, A. and M. A. DRIANCOURT (1999): Seasonal effects on fertility and ovarian follicular growth and maturation in camels (*Camelus dromedarius*). *Anim. Reprod. Sci.* 55, 223-237.
53. SHARMA, S. S. and K. K. VYAS (1970): Parturition in the camel (*Camelus dromedarius*). *Ceylon Vet. J.* 18, 7-9.
54. SKIDMORE, J. (2005): Reproduction in dromedary camels: an update. *Anim. Reprod.* 2, 161-171.
55. SKIDMORE, J. A., W. R. ALLEN and R. B. HEAP (1994): Oestrogen synthesis by the peri-implantation conceptus of the onehumped camel (*Camelus dromedarius*). *J. Reprod. Fertil.* 101, 363-367.
56. SKIDMORE, J. A., F. B. P. WOODING and W. R. ALLEN (1996): Implantation and early placentation in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Placenta* 17, 253-262.
57. SKIDMORE, J. A., G. R. STARBUCK, G. E. LAMMING and W. R. ALLEN (1998): Control of luteolysis in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Reprod. Fertil.* 114, 201-209.
58. SKIDMORE, J. A., M. BILLAH and W. R. ALLEN (2002): Investigation of factors affecting pregnancy rate after embryo transfer in the dromedary camel. *Reprod. Fertil. Dev.* 14, 109-116.
59. SMITH, C. L., A. T. PETER and D. G. PUGH (1994): Reproduction in llamas and alpacas: A review. *Theriogenology* 41, 573-592.
60. SUAREZ, S. S. and A. A. PACEY (2006): Sperm transport in the female reproductive tract. In: *Human Reproduction Update* 12, 23-37.
61. SUMAR, J. B. (2013): Embryo transfer in domestic South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 136, 170-177.
62. SZENCI, O., Z. SZELÉNYI, LEA LENART, D. BUJAK, L. KOVACS, L. FRUZSINA KEZER, B. HAN and A. HORVATH (2018): Importance of monitoring the periparturition period to increase reproductive performance in dairy cattle. *Vet. stn.* 49, 297-307.
63. TIBARY, A. and A. ANOUASSI, (2001): Obstetrics in camels. In: Skidmore, L. and Adams G. P., Eds., *Recent Advances in Camelid Reproduction*, A1005.0501
64. VAN LENNEP, E. W. (1961): The histology of the placenta of the one-humped camel (*Camelus dromedaries*) during the first half of pregnancy. *Acta Morph. Neerlandica Scand.* 4, 180-193.
65. VAN LENNEP, E. W. (1963): The histology of the placenta of the one-humped camel (*Camelus dromedaries*) during the second half of pregnancy. *Acta Morph. Neerlandica Scand.* 6, 373-379.
66. VON BAER, L. and C. HELLEMANN (1999): Cryopreservation of llama semen. *Reprod. Dom. Anim.* 34, 95-96.
67. VAUGHAN, J. L. and J. TIBARY (2006): Reproduction in female south american camelids: a review and clinical observations. *Small Rumin. Res.* 61, 259-281.
68. VETTICAL, B. S., S. B. HONG and N. A. WANI (2016): Multiple ovulation and embryo transfer (MOET) in camels: An overview. *Asian Pacific J. Reprod.* 5, 102-104.
69. VYAS, S., N. SHARMA, F. D. SHEIKH, S. SINGH, D. S. SENA and U. K. BISSA (2015): Reproductive status of *Camelus bactrianus* during early breeding season in India. *Asian Pacific J. Reprod.* 4, 61-64.
70. WATSON, P. F. (2000): The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 481-492.
71. WHEELER, J. C. (2012): South American camelids - past, present and future. *J. Camel Sci.* 5, 1-24.
72. YAGIL, R. and Z. ETZION (1980): Effect of drought condition on the quality of camel milk. *J. Dairy Res.* 47, 159-166.
73. ZHAO, X. X. (1994): Artificial insemination and pregnancy diagnosis in the Bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *J. Arid. Environ.* 26, 61-65.

Physiology of reproduction in camelids - Assisted reproductive technologies, pregnancy, and parturition. Part II.

Dražen ĐURIČIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Veterinary Practice Đurđevac, Croatia; Iva KILVAIN, DVM, Croatian Veterinary Institute - Regional Laboratories Rijeka, Croatia; Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

Although camelids are not represented and economically significant animals in Croatia, they represent an attraction and there is a growing trend of breeding these animals as pets, especially the South American camelids, llamas and alpacas. In natural conditions, the reproductive efficiency of camelids is relatively low. Camelids are seasonally polyoestrous animals. Ovulation in the female is induced by copulation. Semen collection consists of the use of an artificial vagina (with stricture) placed in a female wooden dummy in the sitting position. Use of assisted reproductive technologies, such as Artificial Insemination (AI) and Multiple Ovulations and Embryo Transfer (MOET), *in vitro* (maturation, fertilization, culture) embryo production or other biotechnologies (cloning and transgenesis) are not widely used as routine breeding procedures in camels. AI and MOET are technologies applied in breeding programmes to improve the production characteristics of various domestic animal species. These techniques are not directly applicable in camelids, as the reproductive physiology differs compared to other domestic animals. Today, the most commonly used combination for the multiple ovulation of ovaries in camels is a combination of porcine FSH (pFSH) and equine chorionic gonadotropine (eCG). A better pregnancy rate is achieved with recipients ovulating 24 h after the donor. Recipients must be prepared from a group of females with follicles 13 - 17 mm in diameter, and are injected with GnRH or hCG 24 h after mating with the donor.

Embryos are flushed transcervically on day 7 after ovulation. After selecting the embryos based on morphological characteristics, the embryos are aspirated in the paillette and transferred to the prepared recipients (on day 6 after ovulation), usually in the left horn of the uterus. The generational interval is relatively long because of the late sexual maturity, long gestation period and they have only one newborn. Gestation length is 365 to 410 days in dromedary camels, 345±15 days in llamas, and 330±10 days in alpacas. Pregnancies usually occur in the left uterine horn. The embryonic signal for maternal recognition is important for embryo survival. Parturition is divided into three stages: preparation for birth (2 - 6 hours), the passage of foetus (10 - 45 minutes), and expulsion of the placenta. Because of the relatively long neck and limbs and the fact that almost all foetuses are born in the anterior longitudinal presentation, neck or/and limb flexion is often present. With good management and controlled breeding, it is possible to increase the reproductive efficiency of camelids. The caul (*placenta*) of camelids (according to the layers) is the *placenta epitheliochorialis (microcotyledonaria)*, and according to the schedule between *placenta materna* and *placenta fetalis* is the *placenta diffusa*. Due to the long generation interval, more attention should be directed at improving assisted reproductive technologies and early ultrasound pregnancy recognition.

Keywords: camelids; assisted reproductive technologies; pregnancy; parturition