Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (1), 1-11 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Влияние на системата за отглеждане върху състава на мастните киселини в мляко от Саански кози, отглеждани в Югоизточните райони на Румъния

Ана Елена Кисмилеану*, Илие Войку, Мариана Ропота

Национален научноизследователски институт по биология и хранене на животните - IBNA Балотещи, "Калея Букурести" 1, 077015 Балотещи, Румъния

Impact of the Rearing System on the Milk Fatty Acids Composition of Saanen Goats Bred in the S-E Regions of Romania

Ana Elena Cismileanu*, Ilie Voicu, Mariana Ropota

National Research Development Institute for Animal Biology and Nutrition – IBNA Balotesti, Calea Bucuresti 1, 077015 Balotesti, Romania
**E-mail: ana_cismileanu@yahoo.com*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Цел на настоящето изследване е да определи състава на мастните киселини в мляко, произведено от порода "Саанска коза" във връзка със системата за отглеждане в три частни стопанства от южен и югоизточен район на Румъния (интензивно, полуинтензивно и екстензивно). Във всяка ферма е избрана група от 15 кози. Млякото е наблюдавано за период от 4 месеца, от юни до септември. Всеки месец се отчитаха качествените характеристики на млечния добив, протеини,мазнини и състава на мастните киселини. Млечните мазнини са подобрени в полиненаситени мастни киселини, без да се променя концентрацията на млечни мазнини. Във всяка ферма, по гореспоменатия ред, количеството на полиненаситените мастни киселини ω-3 (% от общите метилови естери на мастните киселини) нараства съответно с 0.54, 1.38 и 2.19. Ефектът от системата на

SUMMARY

This paper aims especially to quantify the fatty acids composition of milk produced by goats from Saanen breed in relation with the rearing system in three private farms from the south and south-east regions of Romania (intensive, semi-intensive and extensive). In each farm a group of 15 goats was selected and their milk was monitored along 4 months, from June to September.

In each month the milk yield, the protein and fat as quality parameters were recorded, and also, the fatty acids composition was determined. Milk fat was improved in polyunsaturated fatty acids PUFA without changing the milk fat concentration. In each farm, in above-mentioned order, the milk sum of PUFA ω-3 (% of total fatty acids methyl esters FAME) increased: 0.64, 1.38 and 2.19, respectively. The effect of breeding system is reflected in the PUFA ratio ω-6/

отглеждане се отразява в съотношението на полиненаситените мастни киселини ω-6/ω-3, което значително намалява. Стойностите за всеки тип стопанство са съответно 8.65, 2.54 и 1.86. Потвърдено е благоприятното влияние на пасището (в екстензивна ферма) върху хранителната стойност на козето мляко.

Ключови думи: козе мляко, мастни киселини

ω-3 values which significantly decreased.

These values corresponding to each farm type were 7.40, 2.54 and 1.86. The favorable influence of pasture (in extensive farm) on the nutritional value of goat milk has been confirmed.

Key words: goat milk, fatty acids

УВОД

Тъй като се забелязва по-голям интерес към полезните свойства на козето мляко, неговата консумация се увеличава. Но съставът на млякото е променлив и зависи от диетата на животните, лактационния период, сезона, породата, географския регион и други фактори. Най-важната роля играе оптимизираната система за отглеждане, която включва хранене и порода на животните.

През последните 10 години в Румъния основното направление в козевъдството е млекопроизводството, което до голяма степен зависи, както количествено, така и качествено, от системата за отглеждане на кози, прилагана в стопанствата. Дори и да са построени малко съвременни ферми, голяма част от козевъдните стопанства в Румъния са с малки и средни размери и прилаганата технология на работа като цяло зависи от полуинтензивните и обширни системи за отглеждане (Raducuta, 2010). Всяка година се регистрират увеличен брой кози вследствие на интензификацията в отглеждането на автохтонни породи или чужди породи като „Саанска коза“ или „Френска алпийска коза“.

Липидният състав в козето мляко е добре оценен и увеличаването в съдържанието на млечни полиненаситени мастни киселини чрез диетата на животните подобрява хранителната стойност на млякото. Най-важните мастни киселини са линолова, линоленова и арахидонова, тъй като те са от същест-

INTRODUCTION

Because more intense attention for goat milk beneficial properties is registered this milk consumption has increased. But the milk composition is variable and depends on animal diet, lactation period, season, breed, geographic region and other factors. The most important roles are played by the optimized rearing system which includes the nutrition and the animal breed.

In the last 10 years in Romania the main direction of goats breeding is for milk production, which depends largely, both quantitative and qualitative, by the system of goats exploitation practiced in farms.

Even that few modern farms were built, the goat farms in Romania are still in their vast majority of small and medium size and the applied operating technology is generally dependent by semi-intensive and extensive systems of exploitation (Raducuta, 2010). There is registered year by year an increased number of goats as a consequence of rearing intensification for autochthonous breeds or foreign breeds like Saanen or French Alpine.

The lipid composition of goat milk is well appreciated and increasing milk polyunsaturated fatty acids content through animal diet improves milk nutritional value.

The most important fatty acids are linoleic, linolenic and arachidonic because they

вено значение за структурата на различни клетъчни мембрани и определени липопротеини при хората. Млечната мазнина може също така да осигури цис-9 и транс-11 форми на конюгирана линолова киселина (CLA), която влияе в превенция на онкологични заболявания, атеросклероза, затлъстяване диабет и способства за повишаване на имунитета (Dhiman, 2005).

В този контекст, статията има за цел да оцени количествените и качествени характеристики на мастните киселини в мляко от порода Саанска коза във връзка със системата на отглеждане. Тази порода е широко разпространена в Румъния и е добре приспособена към климата на територията.

are essential for structure of various cell membranes and certain lipoproteins in humans. Milk fat can also, furnish the cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) that has health influencing properties including anticarcinogenic, anti-atherogenic, antiobesity, immune system enhancement and antidiabetic (Dhiman, 2005).

In this context the paper aims to evaluate the quantitative parameters and the qualitative ones like fatty acids profile for goat milk of Saanen breed in relation with the operating system of exploitation. This breed is large spread in Romania and is well adapted to the territory climate.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Наблюдавани са три групи от 15 кози от Саанска порода (50 ± 2.5 kg телесно тегло). Всяка група принадлежи към стопанство в равнинните райони на Югоизточна Румъния: интензивна ферма (I) в Окръг Констанца, полуинтензивна (S) в Окръг Телеорман и традиционна, екстензивна ферма (E) в Окръг Прахова. Всички животни са родили и са в период на втора или трета лактация. След раждането през февруари не беше възможно да се разграничи храненето, така че наблюденията започнаха през юни и продължиха 4 месеца до септември.

Животните са доени два пъти на ден и всеки месец са взимани млечни проби от всяко животно. Всяка проба е анализирана за съдържание на протеини и мазнини с инфрачервен метод чрез анализатор Funke Gerber Lactostar, стандартизиран за козе мляко. Съставът на млечните мастни киселини се определи по метода на газовата хроматография след екстрахиране на липидите и естерификация на мастните киселини с метанол. Получените метилови естери на мастните киселини (FAME) са разделени с помощта на газов хроматограф GC Perkin Elmer-Clarus 500,

MATERIAL AND METHODS

Three groups of 15 Saanen goats each (50 ± 2.5 kg body weight) were monitorized. Each group belonged to a farm in the S-E plain regions of Romania: an intensive farm (I) in Constanta county, a semi-intensive one (S) in Teleorman county and a traditional, extensive farm (E) in Prahova county. They all were pluriparous in second or third lactation. After parturition which occurred in February, the differentiation between feeding was not possible so the observations were initiated in June and extended for 4 months till September.

Animals were milked twice a day, and every month milk samples were collected from each animal. Each sample was analyzed for protein and fat content with infrared method using a Funke Gerber Lactostar analyser standardised for goat milk. Also, the milk fatty acids composition was determined by the gas chromatography method after extracting the lipids and the esterification of the fatty acids with methanol.

The resulted methyl esters (FAME) were separated using gas chromatograph GC Perkin Elmer-Clarus 500, equipped with

оборудван с капилярна колона с неполярна стационарна фаза (Agilent BPX70; 60m x 0.25 mm вътрешен диаметър x 0.25µm филм) и пламъчно-йонизационен детектор според стандарт SR CEN ISO/TS 17764-2: 2008 и сравнени с търговски референтен микс от 37 мастни киселини. Резултатите са изразени като грам мастни киселини/100 g общо метилови естери (FAME).

Взети са проби от храната и пасищата за сухо вещество (СВ), суров протеин (СП), етерни вещества (ЕЕ), сурови влакна (СВл) и пепел (П) съгласно методите, представени в Criste (2003). Хранителната им стойност е изчислена според INRA (Франция) чрез прилагане на подобен протокол, разработен от IBNA Balotesti (Burlacu, 2002).

Всички животни от I група (интензивна система) са отглеждани в обор при контролирани условия на околната среда (вентилация, температура, коза/площ 1.8 m^2) и с напълно механизирани дейности (доене, раздаване на храни, изхвърляне на отпадаците, адаптация). Животните са хранени с дажба, изчислена за производство на 3 L/глава/ден (Таблица 1): слама, 0.5 kg сено от люцерна и 2.2 kg/глава/ден s гранулиран концентратен фураж от производител от Нидерландия [суров протеин (СП) 18.5% сухо вещество (СВ); 0.85 хранителна единица при лактация (UFL)/kg от СВ; подробен състав в Таблица 2].

capillary column of high polarity stationary phase (Agilent BPX70; 60m x 0.25 mm inner diameter x 0.25µm thick film) and flame-ionization detector according to SR CEN ISO/TS 17764-2:2008 and comparing with a commercial reference mix of 37 fatty acids. The results are expressed as g fatty acid/ 100 g total FAME.

The feed and pasture were analyzed as prepared weighed samples and assayed for dry matter (DM), crude protein (CP), ether extractives (EE), crude fibre (CF) and ash (Ash), according to the methods presented in Criste (2003). Their nutritive value was calculated according to INRA (France) by applying a similar protocol developed by IBNA Balotesti (Burlacu, 2002).

All the animals in group I (intensive system) were kept in shelters under controlled environmental conditions (ventilation, temperature, surface/goat 1.8 m^2) and with fully mechanized activities (milking, food distribution, garbage disposal, adaptation). They were fed a ration calculated for production of 3 L/ head/d (Table 1): straw, 0.5 kg alfalfa hay and 2.2 kg/head/d of a granulated concentrate feed from a Netherland producer [crude protein (CP) 18.5% of dry matter (DM); 0.85 UFL/kg DM; detailed composition in Table 2].

Таблица 1. Състав на дажбата при интензивно отглеждане на кози
Table 1. The ration composition for intensive goat rearing system

	Kg	Kg DM/CB	UFL	PDIN	PDIE	Ca	P
Granulated feed Гранулиран фураж	2.2	1.95	1.66	205	156	2.92	17.9
Alfalfa hay Сено от люцерна	0.5	0.43	0.30	38	26	8.17	0.77
Straw / слама	0.7	0.62	0.31	14	26	1.42	0.8
Total / Общо	3.4	3.00	2.27	257	208	12,51	19.47

UFL = хранителна единица при лактация
PDIN = смилаем протеин в тънките черва спрямо азота
PDIE = смилаем протеин в тънките черва спрямо енергията
UFL = Feed Units of Lactation
PDIN = intestinally digestible protein allowed by nitrogen
PDIE = intestinally digestible protein allowed by energy

Таблица 2. Гранулиран концентриран фураж – химически състав (‰)
Table 2. Granulated concentrate feed – chemical composition (‰)

СВ DM	СП CP	ЕЕ EE	СВл CF	БЕВ NFE	Пепел Ash	Брутна енергия Gross Energy	Ca	P
886	163.4	37.37	110.00	480.46	94.77	3816 Kcal	1.33	8.15

Състав на гранулиран фураж: пулпа от захарно цвекло 27.48%, соев шрот 19.91%, пшенични трици 16.07%, царевица 13.85%, пулпа от сушени ябълки 7.5%, ечемик 6.77%, калциев карбонат 3.43%, соево олио 1.93%, меласа от цвекло 1.50%, монокалциев фосфат 0.75%, минерални вещества 0.63, сол 0.18%, СП = суров протеин, ЕЕ= етерен екстракт, СВл=сурови влакнини, БЕВ=безазотни екстрактни вещества

Composition of granulated feed: sugarbeet pulp 27.48%, soybean meal 19.91%, wheat bran 16.07%, corn 13.85%, apple dried pulp 7.5%, barley 6.77%, limestone 3.43%, soybean oil 1.93%, molasses beet 1.50%, monocalcium phosphate 0.75%, minerals 0.63%, salt 0.18%); CP=crude protein, EE=ether extract, CF=crude fiber, NFE=nitrogen-free extractives

При група S е използван концентрат и сено от люцерна след контролирана и ограничена паша от месец април. Животните имат свободен достъп (от 8.00 до 16.00 ч.) до постоянно пасище със състав 30% бобови (*Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Medicago falcata*) и 70% житни растения (*Festuca vallesiaca*, *Lolium perenne*, *Bathriochloa ischaemum*, *Stipa capilata*, *Poa bulbosa*, *Agropyron repens*, *Poligonum aviculare*, *Taraxacum officinalis*, *Dactylis glomerata*). Дажбата за група S, изчислена за производство на 2.5 L/глава/ден е представена в Таблица 3.

The S group had concentrate and alfalfa hay administration after controlled and restricted grazing starting to April. The animal had free access (8.00 a.m-4.00 p.m.) to a permanent pasture, constituted by 30% leguminosae *(Trifolium repens, Trifolium pratense, Medicago falcata)* şi 70% graminee *(Festuca vallesiaca, Lolium perenne, Bathriochloa ischaemum, Stipa capilata, Poa bulbosa, Agropyron repens, Poligonum aviculare, Taraxacum officinalis, Dactylis glomerata).* The ration for S group, calculated for production of 2.5 L/ head/d is presented in Table 3.

Таблица 3. Състав на дажбата при полуинтензивна система за отглеждане на кози
Table 3. The ration composition for semi-intensive goat rearing system

	Kg	Kg CB/DM	UFL	PDIN	PDIE	Ca	P
Пасищно отглеждане Grass pasture	8.00	1.36	1.28	103	95	12.2	4.08
Сено от люцерна Alfalfa hay	0.20	0.17	0.11	15	10	2.38	0.34
Царевица / Corn	0.45	0.39	0.53	35	43	0.12	1.13
Ечемик / Barley	0.25	0.22	0.24	15	18	0.18	0.88
Общо / Total	-	2.14	2.16	168	166	14.88	6.43

UFL = хранителна единица при лактация
PDIN = смилаем протеин в тънките черва спрямо азота
PDIE = смилаем протеин в тънките черва спрямо енергията

UFL = Feed Units of Lactation
PDIN = intestinally digestible protein allowed by nitrogen
PDIE = intestinally digestible protein allowed by energy

Животните от група E са отглеждани при екстензивни условия, имаха свободен достъп до пасище от април (8.00 ч.-16.00 ч.), съставено от 50%

The E group, reared under extensive conditions, had free access starting from April to pasture (8.00 a.m-4.00 p.m.), constituted by 50% leguminosae (*Trifolium*

бобови (*Trifolium* sp., *Vicia* spp.) и 50% житни (*Festuca vallesiaca*, *Lolium perenne*, *Taraxacum officinalis*, *Dactylis glomerata*), на брега на река Прахова (равнинна площ); те не са получавали друг фураж. Средното съдържание на СП в пробите от пасището е 16.1% СВ, а хранителната му стойност е 0.95 UFL/kg от СВ.

Резултатите са статистически обработени чрез еднофакторен дисперсионен анализ, използвайки комютърната програма Excel за Windows.

sp., *Vicia spp.*) and 50% graminee (*Festuca vallesiaca, Lolium perenne, Taraxacum officinalis, Dactylis glomerata*) grazing on the banks of Prahova River (plain area); it received no other feeds. The average CP content of pasture was 16.1% of DM and its nutritive value 0.95 UFL/kg DM.

The results were processed statistically for one-way variance using Excel for Windows computer program.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

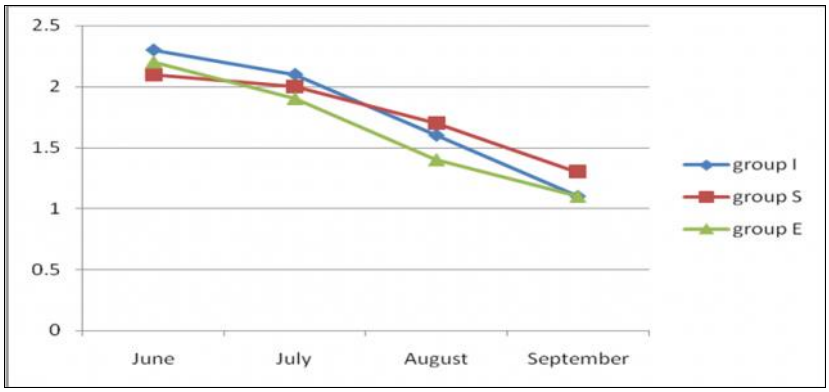
Млечност

Млечният добив намалява в течение на месеците на лактацията (Фигура 1), докато телесното тегло на козите не показва значителна промяна по време на опита. Средната месечна млечност не се различава статистически сред групите.

RESULTS AND DISCUSSION

The milk production

The milk yield decreased along the months of lactation (Figure 1) while the body weight of goats did not show any significant change along the trial. The monthly average yield did not statistically differ among the groups.



Фиг. 1. Среден млечен добив за трите групи кози през месеците на опита (L/глава/ден)
Fig. 1. Average milk yield for the 3 goat groups in the months of trial (L/ head/d)

Състав на млякото

Не са открити значителни промени в съдържанието на протеини и мазнини в млякото през наблюдавания период на лактация (Таблица 4). Група S и E показват значително по-ниско съдържание на мазнини само през юни, но през всички останали месеци няма значителни разлики при протеини или мазнини между групите. Това ниско

The milk composition

No significant changes in the protein and fat content in the milk during the monitorized lactation period were found (Table 4). Group S and E showed significantly lower fat content only in June but in all other months there were no significant differences between groups for protein or fat.

ниво на мазнини през юни може да се обясни с факта, че Саанската коза е много податлива на топлинен стрес, което може силно да повлияе на очакваното качество на млякото през годината (Kljajevic, 2018).

This low fat level in June can be explained by the fact that Saanen goats are very prone to heat stress, which could strongly affect the expected quality of goat milk through the year (Kljajevic, 2018).

Таблица 4. Среден състав на млякото (%) за всеки месец от опита
Table 4. The average milk composition (%) in each month of the trial

	Група 1 / Group I		Група S / Group S		Група E / Group E	
	Протеин Protein (%)	**Мазнини Fat (%)**	**Протеин Protein (%)**	**Мазнини Fat (%)**	**Протеин Protein (%)**	**Мазнини Fat (%)**
Юни / June	3.14±0.19	3.84±0.91	3.09±0.13	3.18±0.26	3.26±0.75	2.61±0.42
Юли / July	3.27±0.67	3.72±0.35	3.31±0.08	3.88±0.22	3.15±0.79	3.22±0.50
Август / August	3.59±0.62	3.80±0.67	3.53±0.09	3.79±0.60	3.31±0,66	3.49±0.40
Септември September	3.53±0.45	3.56±0.55	3.58±0.27	3.83±0.37	3.37±0.50	3.91±0.73

Профил на млечните мастните киселини

Както е показано в Таблица 5, най-високата стойност на наситените мастни киселини (НМК) в млякото на кози от група S е 71.31%, което също е значително различно спрямо група I със стойност от 65.26%. Тази разлика се дължи на миристиновата C14:0 и палмитиновата C16:0 киселини, които имат неочаквано най-високи стойности в група S, особено през август и септември. Ниво 68.36% в група E не се различава от стойността на група I; очевидна разлика има само при стеариновата киселина C18:0, която е много по-висока в група E, съответно 10.02% отколкото 6.96% в група I и 5.73% в група S. Подробно изследване за разпределението на НМК показа постоянно ниво в групата I и E, и леко увеличение в група S през месеците на експеримента.

The milk fatty acids profile

As depicted in Table 5 the level of saturated fatty acids (SFA) in the milk of goats from group S is the highest value, 71.31%, which is also, significant different to level 65.26% of the group I. This difference is due to the myristic C14:0 and palmitic C16:0 acids which had unexpected highest values in group S, especially in August and September.

The 68.36% level in group E is not different than group I value; an evident difference is only for the stearic acid C18:0 which is much higher in group E, respectively 10.02% than 6.96% in group I and 5.73% in group S. A detailed examination of the distribution of SFA showed a constant level in group I and E, and a slight increasing in group S through the months of the trial.

Таблица 5. Профил на млечните киселини за месеците на експеримента (g/100 g метилови естери на мастните киселини) средни стойности ± SD
Table 5. Milk fatty acids profile for the months of trial (g/100 g FAME) – mean value ± SD

	group I	group S	group E
C 4:0	0.08±0.05	0.05±0.02	0.05±0.02
C 6:0	1.48±0.31	1.31±0.16	1.41±0.20
C 8:0	2.84±0.48	2.46±0.31	2.95±0.47
C 10:0	9.34±1.02	9.07±1.02	10.19±1.56
C 11:0	0.27±0.08	0.31±0.08	0.23±0.06
C 12:0	4.85±0.79	4.22±0.75	4.25±0.79
C 13:0	0.05±0.02	0.09±0.02	0.08±0.01
C 14:0	9.77±0.48	12.04±1.16	10.64±1.48
C 14:1	0.24±0.13	0.52±0.13	0.40±0.06
C 15:0	0.33±0.12	0.42±0.08	0.34±0.06
C 15:1	0.89±0.20	1.43±0.24	1.21±0.14
C 16:0	28.73±1.54	34.87±5.13	27.61±2.92
C 16:1	1.40±0.21	1.33±0.31	1.46±0.28
C 17:0	0.53±0.12	0.62±0.12	0.46±0.06
C 17:1	0.63±0.09	0.82±0.14	0.76±0.11
C 18:0	6.96±1.25	5.73±1.13	10.02±2.18
C 18:1n9c	25.18±2.01	18.38±2.45	20.12±2.86
C-18:2tr9,12	0.41±0.04	0.40±0.13	0.97±0.25
C-18:2cis9,12	3.83±0.21	2.39±0.30	2.44±0.32
C 20:0	0.02±0.03	0.10±0.04	0.14±0.06
C 18:3n6	0.01±0.00	0.11±0.07	0.15±0.07
C 20:1n9	0.09±0.01	0.12±0.06	0.15±0.08
C-18:3cis9,12,15	0.34±0.01	0.96±0.21	1.52±0.29
CLA(C18:2n 9c11t)	0.30±0.01	0.42±0.09	0.67±0.19
C 20:2n6	0.13±0.08	0.18±0.07	0.18±0.07
C 20:3n6	0.16±0.23	0.07±0.06	0.09±0.05
C 20:3n3	0.07±0.05	0.05±0.04	0.10±0.00
C 20:4n6	0.13±0.11	0.14±0.04	0.14±0.04
SFA	65.26±2.27	71.31±3.39	68.36±3.65
MUFA	28.43±1.99	22.60±2.80	24.10±3.15
PUFA	5.38±0.50	4.71±0.65	6.26±0.75
UFA	33.81±2.12	27.31±3.31	30.36±3.60
PUFA ω -3	0.64±0.02	1.38±0.25	2.19±0.33
PUFA ω -6	4.67±0.46	3.28±0.46	3.97±0.49
ω -6/ω -3	7.40±0.79	2.54±0.39	1.86±0.23

Нивото на мононенаситените мастни киселини (МНМК) е значително високо (28.43%) в група I в сравнение с 22.60% в група S и 24.10% в група E. Това ниво се дължи на концентрацията на цис-олеинова киселина, C18: 1n9c, която присъства в концентрирания фураж в група I, както е посочено от

The monounsaturated fatty acids (MUFA) level is significantly high (28.43%) in group I compared with 22.60% in group S and 24.10% in group E. This level is due to the concentration of cis-oleic acid, C18:1n9c, indeed present in the concentrate feed of the group I as mentioned by the producer. But the group

производителя. В група S има някои неочаквано високи стойности за киселина C14:1 (0.52%), C15:1 (1,43%) и C17:1 (0,82%) и това е причината, поради която нивото на МНМК в група S е понижено през месеците юни-септември, докато в група I и E нивото е относително постоянно.

Нивото на полиненаситените мастни киселини (ПНМК) е значително високо в група E (6,26%) в сравнение с 5.38% в група I и 4.71% в група S. Увеличението на ПНМК в група E се дължи на голямото съдържание на линолова киселина, C18:2n и алфа-линоленова киселина, C18:3cis9,12,15 при паша. Следователно млякото има най-големи стойности при тези киселини и за CLA (конюгирана линолова киселина C18:2n 9c11t). Изключително положителния ефекти върху ПНМК при пашата е посочен при кози и овце от авторите Soryal (2004), D'Urso (2008), Tsiplakou (2006). CLA като част от спектъра на ПНМК заемат важно място в проучванията през последните 15 години (Cabiddu, 2004; Sanz, 2007) поради биологичната им функция, подобряваща здравето. CLA се образува главно чрез изомеризация на линолова киселина с помощта на анаероба *Butyrivibro fibrisolvens* в търбуха. Концентрацията на CLA в суровото мляко и млечните продукти варира в зависимост от различни фактори като порода, сезон, хранене на животните. В контекста на настоящият експеримент, CLA се влияе от качеството на ливадната трева и нивото се подобрява чрез подхранване с паша, както се вижда от резултатите: 0.67% в група E, 0.42% в група S в сравнение с 0.30% в група I.

Група E има най-високо ниво на транс-линолова киселина (0.97%), а група I има най-високо ниво за цис-линолова киселина (3.83%). В група S цис-линоловата киселина има по-ниска стойност (2.39%) в сравнение с група E (2.44%) и този среден резултат е повлиян от пашата през август и септември.

S had some unexpected high values for C14:1 acid (0.52%), C15:1 (1.43%) and C17:1 (0.82%) and this is the reason that MUFA level in group S is the only decreased through the months June-September while in group I and E the level is relatively constant.

The polyunsaturated fatty acids (PUFA) level is significantly high in group E (6.26%) comparing with 5.38% in group I and 4.71% in group S. The increasing of PUFA in group E is due to a great content of linoleic acid, C18:2n and alpha-linolenic acid, C-18:3cis9,12,15, in pasture.

Consequently, the milk had the greatest values for these acids, and for CLA (conjugated linoleic acid C18:2n 9c11t). The positive effect of pasture on milk PUFA has been reported by many authors for goats or sheep – Soryal (2004), D'Urso (2008), Tsiplakou (2006). The CLA as part of PUFA acids spectrum take an important place in the studies during the last 15 years (Cabiddu, 2004; Sanz, 2007) because of their health improving biological function.

CLA is formed mainly via isomerization of linoleic acid using the anaerobe *Butyrivibro fibrisolvens* in the rumen. The CLA-concentration in raw milk and milk products varies with different factors as breed, season, animal nutrition. In the context of our trial the CLA is influenced by the quality of meadow grass and indeed, the CLA level is improved by grazing feeding as can be observed by the results: 0.67% in group E, 0.42% in group S compared with 0.30% in group I.

Group E has the highest level for trans-linoleic acid (0.97%), and group I has the highest level for cis-linoleic acid (3.83%). In group S, the cis-linoleic acid has lower value (2.39%) than group E (2.44%) and this average result was influenced by the August and September pasture for group S. As previously

ври при група S. Както беше отбелязано по-рано, пасищата повлияват цялостното съдържание на мастни киселини през тези месеци.

Нивото на алфа-линоленовата киселина е 5 пъти по-високо в група E (1.52%) и 3 пъти по-високо в група S (0.96%), отколкото в група I (0.34%). И това е благоприятен ефект за потребителите на мляко, както вече е известно.

В човешкото хранене специално внимание се отделя на ненаситените дълговерижни омега-3 (ПНМК ω-3) и омега-6 (ПНМК ω-6), тъй като те предотвратяват коронарните и сърдечно-съдови заболявания В настоящето изследване нивото на ω-3 мастните киселини се увеличава, тъй като храненето се осъществява чрез паша: 2.19% в група E (само пасищно изхранване), 1.38% в група S (частично пасищно изхранване) и само 0.64% в група I (без пасища). Съотношението на мастни киселини ω-6/ω-3 под 4, както е препоръчано от Експертния комитет на Организацията по храните и земеделието, може да покаже, че тестваното мляко е с нисък риск за човешкото здраве. В настоящето проучване съотношението между тези две групи мастни киселини е 7.40 за мляко от група I и намалява при много добри стойности за групата S и E, съответно 2.54 и 1.86. Тези стойности показват, че млякото от паша на кози е с нисък рисков фактор за човешкото здраве.

observed, the modification of this pasture quality influenced all the fatty acids content in these months.

The alpha-linolenic acid level is 5 times higher in group E (1.52%) and 3 times higher in group S (0.96%) than in group I (0.34%). And this is a beneficial effect for milk consumers as already known.

In the human nutrition a special attention is dedicated to omega-3 (PUFA ω-3) and omega-6 (PUFA ω-6) unsaturated long-chain fatty acids because they prevent coronary and cardiovascular diseases.

In our study, the level of ω-3 fatty acids is increasing as the feeding is based on grazing: 2.19% in group E (only pasture), 1.38% in group S (partial pasture) and only 0.64% in group I (not pasture).

The fatty acids ratio ω-6/ω-3 below 4, as recommended by Food and Agriculture Organization Expert Committee can indicate that the tested milk is at low risk for human health. In our study, the ratio between these two groups of fatty acids was 7.40 for milk of group I, and decreased at very good values for group S and E, 2.54 and 1.86, respectively.

These values indicate that milk from grazing goats is with low risk factor for human health.

ИЗВОДИ

Настоящото проучване потвърждава благотворното влияние на пасищното хранене върху профила на мастните киселини от козе мляко чрез наличието на високо съдържание на CLA, ω-3 и ω-6 киселини. С увеличаване на пропорцията на пасищното изхранване при козите, концентрацията на основните групи мастни киселини се променя: повишава се нивото на ПНМК, нивото на МНМК намалява, НМК не се влияе, съотношението ω-6/ω-3 намалява близо с 2.

CONCLUSIONS

This study confirms the beneficial influence of pasture to goat milk fatty acids profile by the presence of high content of CLA, ω-3 and ω-6 acids.

With advance of pasture proportion in goats feeding the concentration of the major fatty acid groups changes: PUFA level increase, MUFA level decrease, SFA is not influenced, ratio ω-6/ω-3 is lowering near 2.

Освен това, проучването показва високата биологична стойност на порода Саанска коза, която е добре адаптиран към румънските системи за отглеждане и произвежда мляко с много добро качество. В заключение, трябва да се подчертае, че пасищното изхранване подобрява профила на млечните мастни киселини, без да има вредно въздействие върху млечната мазнина или протеина.

Also, this study demonstrates the high biological value of the Saanen bred which is well adapted to Romanian rearing systems and produce very good quality milk.

Finally, it has to be underlined that pasture improves milk fatty acid profile without detrimental effects on milk fat or protein.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящето проучване е част от проект 24.1.2. на програмата ADER Министерство на земеделието на Румъния.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study is included in the project 24.1.2. of the ADER program of the Romanian Ministry of Agriculture.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Burlacu, Gh., A. Cavache and R. Burlacu**, 2002. Potentialul productiv al furajelor si utilizarea lor. Ed. Ceres, Bucuresti.
2. **Cabiddu, A., M. Decandia, G. Molle, G. Pirna, M. Addis, S. Spada, A. Pirisi and G. Piredda**, 2003a. Effect of Different Pastures on CLA Content in Milk and Sheep Cheese*. Ital. J. Anim. Sci.,* 2(1), 518-520.
3. **Criste, R., H. Veronica, D. Grossu, M. Olteanu, C. Dragomir and A. Bercaru,** 2003. Specific Analytical Methods for Feeds (Metode analitice specifice studiului nutreturilor), IBNA Balotesti.
4. **Dhiman, T.R., S.H. Nam and A.L. Ure,** 2005. Factors Affecting Conjugated Linoleic Acid Content in Milk and Meat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 463-482.
5. **D'Urso, S., M. I. Cutrignelli, S. Calabrò, F. Bovera, R. Tudisco, V. Piccolo and, F. Infascelli,** 2008. Influence of Pasture on Fatty Acid Profile of Goat Milk. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *92*,405-410.
6. **Kljajevic, N.V., I.B. Tomasevic, Z.N. Miloradovic, A. Nedeljkovic, J.B. Miocinovic and S.T. Jovanovic,** 2018. Seasonal Variations of Saanen Goat Milk Composition and the Impact of Climatic Conditions. *J. Food Sci. Technol*. 55(1), 299-303.
7. **Raducuta, I. and Ghita E.,** 2010. Research Regarding the Situation of Goat Size Exploitations and Goat Breed Structure in Romania. In: Book of Abstracts of the 61th Annual Meeting of The EAAP, Ed. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 268.
8. **Sanz, S. M. R., Y. Chilliard, Ph. Schmidely and J. Boza,** 2007. Influence of Type of Diet on the Fat Constituents of Goat and Sheep Milk. *Small Ruminant Research, 68*, 42-63.
9. **Soryal, K. A., S. S. Zeng, B. R. Min and S. P. Hart,** 2004. Effect of Feeding Treatments and Lactation Stages on Composition and Organoleptic Quality of Goat Milk Domiati Cheese. *Small Ruminant Research, 52*, 109-116.
10. **Tsiplakou, E., K. C. Mountzouris and, G. Zervas,** 2006. Concentration of Conjugated Linoleic Acid in Grazing Sheep and Goat Milk Fat. *Livestock Science,* 103, 74-84.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (1), 12-21 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Оценка на качеството на млякото от млечни ферми в околността на Косово въз основа на общия брой микроорганизми и соматични клетки

Валдет Гжиновчи[1,2]*, Фестим Реджепи[2], Кужтим Ука[2], Милазим Маколи[2]

[1]Университет на Митровица „Иса Болетини“, 40000 Митровица, Косово
[2]Агенция по ветеринарен контрол и храни, 10000 Прищина, Косово

Assessment of the Quality of Milk from Dairy Farms throughout Kosovo based on Total Bacterial Count and Somatic Cells

Valdet Gjinovci[1,2]*, Festim Rexhepi[2], Kujtim Uka[2], Milazim Makolli[2]

[1]University of Mitrovica “Isa Boletini”, 40000 Mitrovica, Kosovo
[2]Food and Veterinary Agency, 10000 Pristina, Kosovo
**E-mail: valdet.gjinovci@umib.net; valdetgjinovci@gmail.com*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Основната цел на настоящето проучване е оценка на качеството на прясното мляко, събрано от млечни ферми от цялата територия на Косово, като част от националната програма „Прозрачност и неутралност на млечните проби”. Според национален административен указ № 20/2006 на Министерство на земеделието, храните и селските райони относно стандартите за качество, прясното мляко се класифицира в четири класа въз основа на общия брой на бактериите (ТВС) и соматични клетки (SC). Около 2000 млечни ферми с ежедневно млекопроизводство от приблизително 185 000 l са избрани за вземане на проби. Общо 9663 проби от прясно мляко са събрани в периода от юли до декември 2019 г. Използван е натриев азид като консервант. Пробите се съхраняват на хладно

SUMMARY

The main purpose of this study is the assessment of quality of the fresh milk collected from the dairy farms throughout Kosovo, as a part the national program “Transparency and Neutrality of Milk Samples”.

According to the national administrative instruction No. 20/2006 on milk quality standards, fresh milk is classified into four classes based on Total Bacterial Count (TBC) and Somatic Cells (SC).

Around 2,000 dairy farms with a daily milk production of approximately 185,000 L were selected for sampling. In total, 9,663 samples of fresh bulk milk were collected during July-December 2019.

Sodium azide was used as a preservative. Samples were kept cool during transport

по време на транспортиране и се предават в Косовската ветеринарна лаборатория по храните. Броят на бактериите е анализиран с помощта на BactoScan™ чрез измерване на отделните клетки на бактериите в сурово мляко, докато соматичните клетки са анализирани с помощта на Fossomatic™. Настоящите данни показват, че 3 920 (45.56%) от 9 663 проби са класифицирани като Екстра клас, 1.132 (11.71%) като Клас I, 1563 (16.18%) като Клас II и 3.048 (31.55%) са класифицирани като клас III.

Настоящите данни не показват голямо отклонение във връзка с национален административен указ № 20/2006. Можем да заключим, че качеството на млякото в Косово е над средното качество и е безопасно за общественото здраве след топлинна обработка, като пастьоризация (HTST) и стерилизация (UHT).

Ключови думи: прясно мляко, млечна ферма, общ брой бактерии, соматични клетки, оборудване за проби

and submitted to the Kosovo Food and Veterinary Laboratory for testing. TBC were analyzed by using BactoScan™ by measuring the individual bacteria cells in raw milk, whereas SC were analyzed by using Fossomatic™.

Present data show that 3,920 (40.56%) out of 9,663 samples were classified as Extra Class, 1,132 (11.71%) as a Class I, 1,563 (16.18%) as a Class II and 3,048 (31.55%) were classified as Class III (LUV 2019).

Present data do not show a big deviation in relation to national administrative instruction No. 20/2006. We can conclude that milk quality in Kosovo is above average quality and could be safely used for public health after heating treatment such are Pasteurisation (HTST) and Sterilisation (UHT).

Key words: fresh milk, dairy farmer, total bacteria counts, somatic cells, samples equipment

УВОД

Млякото и неговите продукти са важен източник на хранителни вещества, предотвратяващи няколко заболявания, въпреки че при определен брой хора могат да се появи отрицателно въздействие като лактозна малабсорбция или протеинови алергии (Pereira, 2014). Целта бе да се предостави актуална информация за общия брой бактерии и соматични клетки, което понастоящем се счита по-важно от подробните данни относно физикохимичните характеристики, като например мазнени, протеин, лактоза, киселинност, плътност при точка на замръзване, обща суха маса и т.н., понеже са свързани с общественото здраве и безопасността на храните. Освен това, млечните продукти и съответно суровините за млекопроизводството трябва да бъдат произведени и преработени при строги контролни мерки за да се достигне

INTRODUCTION

Milk and its products are an important source of nutrients preventing several human diseases, although negative effects such as lactose malabsorption or proteinic allergies may happen at a certain number of people (Pereira, 2014). The purpose was to provide real information for the total number of bacterial and somatic cells, nowadays is being considered much more important than given more datas about physical-chemical parameters such are fat, protein, lactose, acidity, density freezing point, total dry mass etc., because they have to do with public health and food safety.

But, also dairy products respectively raw material milk production, should be produced and processed under strictly control measures to achieve the appropriate level of public health

съответното ниво за предпазва-не на общественото здраве определени чрез хигиенната практика (CAC/RCP 57-2004).

Властите в Косово са одобрили административна инструкция (А.I) в съответствие с Директива № 92/46/ЕИО относно стандартите за качество и категоризация на прясното (сурово) мляко (А.I., № 20/2006). Според нея са установени показателите и тяхната проверка, активност на вземане на проби, стандарти за мляко и класове категоризация (Екстра, I-ви, II-ри и III-ти).

За да се следи качеството на млякото са изследвани ОББ и СК. Следователно ОББ представлява броя на бактериалните колонии на колониобразуваща единица (CFU)/ml, което е показател за обща хигиена във връзка със стопанското зоотехническо управление, общото микробиологично състояние на продукта и санитарно-хигиенните условия, при които той е произведен, преработен или съхраняван (Dibra, 2011). Хигиената на животните, доилните устройства, оборудването и околната среда са определящи фактори, както и изискването за незабавно охлаждане 2 ^{0}C - 8 ^{0}C. Като се има предвид неутрално pH от 6.4-6.8 и хранителните вещества, млякото е привлекателна храна за бактериално замърсяване. От другата страна соматичните клетки произхождат от кръвта (лимфоцити, левкоцити, моноцити, еритроцити) и вимето (цицки, канал и жлези). Броят им зависи от патогенността на микроорганизмите, реакцията на имунитета, околната среда, лактацията, хигиената, полов цикъл, стрес, хранителни и зоотехнически условия (Bijo, 2012). Соматичните клетки показват възпалителен процес най-вече и по-специално в млечната жлеза, показващ клиничен и субклиничен мастит (Schukken et al., 2003). Коагулаза отрицателни стафилококи, *Corynebacterium* spp, *Streptococcus* uberis са някои от патогените, причиняващи мастит, открити до 83% от всички млечни проби, показващи наличието на

protection determined in code of hygienic practise (CAC/RCP 57-2004).

Kosovo Authorities have approved Administrative Instruction (A.I) in accordance with Directive No.92/46/EEC on Quality Standards and Categorization of Fresh (raw) Milk (A.I., No. 20/2006). On this guideline are established indicators and their verification, sampling activity, milk standards and categorization classes (Extra, I-st, II-nd and III-rd).

To monitor the quality of milk among the parameters being tested are TBC and SC. Hence the TBC represents the number of bacterial colonies per unit CFU/ml and it's an indicator of general hygiene in relation to farm zootechnical management, the overall microbiological condition of product and sanitary-hygienic conditions under which the product was produced, processed or stored (Dibra, 2011). The hygiene of animal, milking device, equipmenets and environment are determining factors same as the requirement for immediate cooling 2 ^{0}C - 8 ^{0}C.

Taking into account the pH neutral 6.4-6.8 and nutrients, milk is attractive food for bacterial contamination. On the other side the Somatic Cells originates from blood (lymphocytes, leucocytes, monocytes, erythrocytes) and udder (teat, canal and glands) and their number depends on pathogenicity of microorganisms, immunity response, environment, lactation, hygiene, estrous cycle, stress, food and zootechnic conditions (Bijo, 2012).

SC shows the inflammation process mostly and specifically on the udder gland displaying clinical and subclinical mastitis (Schukken et al., 2003).

Negative coagulase staphylococci, *Corynebacterium* spp, *Streptococcus* uberis, are some of the pathogens causing mastitis found on up to 83% of all milk samples showing the presence of

СК > 100 000 клетки/ml (Schwarz, 2010). Категоризация на краве мляко според класове: Екстра ≤ 80 000; I ≤ 100 000; II ≤ 300 000; III ≤ 500 000 (ОББ) и Екстра ≤ 300 000; I ≤ 400 000; II ≤ 500 000; III ≤ 750 000 (СК) (А.I., № 13/2011). От гледна точка на безопасност на храните, за непреработено мляко показателя ОББ трябва да бъде ≤ 100 000 клетки/ml при температура 30°C, докато за СК ≤ 400 000, при условие че млякото трябва да се обработва термично (Наредба № 12/2011). Качеството на млякото е важно за здравето на хората, преработката на млякото и производителността на фермерите (More, 2009).

SC > 100,000 cell/ml *(*Schwarz, 2010). Categorization of cow milk according to classes: **Extra** ≤ 80,000; **I** ≤ 100,000; **II** ≤ 300,000; **III** ≤ 500,000 (TBC) and **Extra** ≤ 300,000; **I** ≤ 400,000; **II** ≤ 500,000; **III** ≤ 750,000 (SC) (A.I., No.13/2011). From the food safety point of view for unprocessed milk the indicator TBC should be ≤ 100,000 cells/ml on temp 30 ^{0}C, whereas for SC ≤ 400,000 provided that milk should be treated thermally (Reg. No. 12/2011). Thus, the quality of milk is important for human health, milk processing and productivity of farmers (More, 2009).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът включва тестване на млечни проби за определяне на общ брой бактерии (ОББ) и соматичните клетки (СК) за периода юли-декември 2019 г. Взети са общо 9 663 проби от сурово краве мляко от над 2000 стопанства, които са включени в правителствена програма за прозрачност и неутралност на млечни проби, дейност, която започна през 2007 г. (KMPA, 2019). Всеки месец са взимани две проби от мляко в пункт за събиране във ферми или поотделно при случаи на повече от > 20 крави в една ферма. Средната стойност на данните е изчислена за период от три месеца, за да се субсидират земеделските стопани от Министерство на земеделието (SOP № P.355/6, 2019). Лабораторният опит е извършен в Национална референтна лаборатория по храните и ветеринарна медицина (NRFVL), където пробите са сложени в епруветки с обем 40 ml, обработени с консервант Azidol. За да се преброи общия брой бактерии е използван BactoScan - Foss оборудван с капацитет 50 проби на час. BactoScan ™ се основава на технологията на проточна цитометрия за броене на бактерии. Пробата с течността оцветява бактериите и отстранява други съединения, които преминават през светлинна (лазер-

MATERIAL AND METHODS

The workout includes testing of milk samples on determination of Total Bacteria Cells (TBC) and Somatic Cells (SC) number for the period July-December 2019. A total of 9,663 samples of raw cow milk have been taken, on more than 2,000 farms which are included on governmental program for transparency and neutrality of milk samples, an activity which has started implementation on 2007 (KMPA, 2019). Each month, two milk samples have been taken on farm collection point or individually on cases of more than > 20 cows within one farm. The data average was calculated on three months period in order to subsidize the farmers by Ministry of Agriculture (SOP No.P.355/6, 2019). The laboratory part was performed on National Referent Food and Veterinary Laboratory (NRFVL), where the samples were received on 40 ml test tubes treated with Azidol preservative. In order to count **TBC** BactoScan - Foss equipment have been used, with the capacity of 50 samples per hour. BactoScan™ is based on flowcytometry technology for bacteria counting.

Sample with the liquid dyes the bacteria and removes other compounds, which passes through a light beam (laser) tube

на) тръба, където бактериите излъчват червена светлина, регистрираща бактериални клетки чрез микроскоп, които се преброяват по електронен път чрез монитор. Приготвянето на разтворите, реактивите и смяната на филтъра е началният процес на работа. Реактиви и използвани материали: борна киселина, буфер, амоняк, Antifoam-Y30 Emulsion, Sheath Liquid Stock Solution (SLSS), Staining Reagent Stok Solution (SRSS), Rehydration Solution (RHS), Blank Solution (BS), End-of Day Solution (EDS), Rinse Solution (RS), Incubation Reagent (IR), Bacterial Control Sample (BCS), Particle Control Sample (PCS).

Използвано оборудване:

аналогова и електронна везна, водна баня, дейонизатор, епруветки 250 и 500 ml, мензура 25 ml, капкомери 5 ml, лабораторни съдове и BactoScan™. Поточна диаграма на мляко изследвано за ОББ: 40 ml мляко са изливат върху стъкло при температура 2-4 ^{0}C / разбъркани са ръчно за 1 минута / пробите са поставени върху лента на BactoScan, която получава по 4.5 ml на проба / показвайки резултатите върху монитор (SOP 5.4. M-1, 2012). Докато при преброяване на СК е използвано оборудване Fossomatic™ Minor с капацитет от 50 проби за час получавайки 1 ml мляко. Пробите са получени в епруветки от 40 ml обработени с консервант Azidol. В началото процесът на почистване е извършен Clean flow system, Clean cuvete, Zero count и FM Adjustment Sample. Пробите се загряват на водна баня, докато се разбъркват, за да се елиминират остатъците от мазнини.

Реактиви и използвани материали:

Clean I, Clean II, Day solution, FM Adjustment Sample. СК са преброени с оборудване Fossomatic, докато другите са подобни на оборудването използвано за преброяване на ОББ. Поточна диаграма на изследване на СК в млечни проби: 40 ml мляко при температура от 40 ^{0}C / 7 минути / разбърквани за 1

where bacteria emits a red light registering bacterial cells by the microscope, which are counted electronically through a monitor. The preparation of dilutions, reagents and change of filter is the starting process of work. Reagents and used materials: Boric Acid, Buffer, Ammoniac, Antifoam-Y30 Emulsion, Sheath Liquid Stock Solution (SLSS), Staining Reagent Stok Solution (SRSS), Rehydration Solution (RHS), Blank Solution (BS), End-of Day Solution (EDS), Rinse Solution (RS), Incubation Reagent (IR), Bacterial Control Sample (BCS), Particle Control Sample (PCS).

Equipment used: analogue and electronic scale, water bath, deionizer, test tubes 250 and 500 ml, graduated cylinder 25 ml, pipets 5 ml, laboratory dishes and BactoScan™. The flowing diagram of milk testing for TBC: 40 ml of milk was poured on a glassware, temp. 2-4 ^{0}C / stirred manually for 1 min / samples were placed on a BactoScan tape which receives 4.5 ml per sample / displaying results on monitor (SOP 5.4. M-1, 2012). Whereas for counting the **SC** Fossomatic™ Minor equipment was used with a capacity of 50 samples per hour receiving 1 ml of milk and working based on fluorine-optical-electronic technology. Samples were received on test tubes of 40 ml treated with Azidol preservative. On the beginning the cleanup process was performed Clean flowsystem, Clean cuvete, Zero count and FM Adjustment Sample. Samples were heated on water bath while stirring them to eliminate the fat residue.

Reagents and used material: Clean I, Clean II, Day solution, FM Adjustment Sample. The equipment for counting the SC is Fossomatik minor, whereas the others are similar to the equipment used for counting TBC. The flow diagram of milk testing for SC: 40 ml of milk on temp.40 ^{0}C / 7 min / stirred for 1 min / placed on pipet Fossomatic minor which

минута / поставени с пипета върху Fossomatic minor (SOP 5.4. M-2, 2012).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

За определяне на качеството на млякото са тествани 9 663 проби, които определят и техния клас. Субсидирането се извършва само въз основа на параметрите на ОББ, където при всички проби се преброява броят на бактериалните колонии, докато преброяването на СК се извършва само при 5369 проби за периода юли-декември 2019 г. Качеството на млякото въз основа на ОББ е представено накратко в Таблица 1. Според задоволителните резултати в клас Екстра присъстваха 3920 проби, клас I 1132 проби, клас II 1563 проби и клас III 3048 проби. Това показва, че въз основа на общото разпределение за всеки клас по отношение на ОББ, клас Екстра доминира върху категоризацията на млякото. Ако това се преобразува в процент и цифри според стандартите, то необработеното мляко в Косово, по отношение на бактериалното натоварване, показва до 40.56%, което принадлежи към клас Екстра, който е ≤ 80 000 ОББ/ml, последвано от 31.55%, което е клас III с ≤ 500 000. Помалък брой проби са представени от клас I с 11.71%, което съответства на ≤ 100 000 и клас II с 16.18% с ≤ 300 000. Таблица 1 е преобразувана във Фигура 1 за да се сравнят четирите ОББ класа. Докато резултатите от преброяването на СК от общо 5 399 теста са посочени в Таблица 2, съответно във Фигура 2 и представят сравнение между четирите класа. Клас Екстра има 2.274 проби, клас I 846 проби, клас II 1 253 проби и клас III 996 проби. При преброяването на СК, клас Екстра доминира с 42.35%, което е ≤ 300 000, след това клас II с 23.34%, което е ≤ 500 000, последвано от клас III с 18.56% с ≤ 750 000, и долният клас I с 15.75%, което е ≤ 400 000 (A. I., № 13/2011). За да се сравнят резултатите от ОББ със СК, важно е, че и в двата случая клас Екстра доминира

receives 1 ml sample and the results displayed on monitor (SOP 5.4. M-2, 2012).

RESULTS AND DISCUSSION

For determination of milk quality 9,663 samples were tested determining also their class. Subsidizing is done based only on TBC parameters, where on all samples taken the bacterial colony count is performed, whereas the counting of SC is performed only for 5,369 samples for the period July-December 2019. The milk quality based on TBC are briefly presented below in Table 1, which were resulted satisfactory where on class Extra were 3,920 samples, class I 1,132 samples, class II 1,563 samples and class III 3,048 samples. This shows that based on total distribution for each class in regard to TBC, class Extra dominates on milk categorization. If this is converted into percentage and figures according to standards, then it shows that unprocessed milk in Kosovo, in relation to bacterial load results on 40.56 % belonging to class Extra which is ≤ 80,000 TBC/ml, followed by 31.55 % which is class III with ≤ 500,000. A fewer number of samples resulted on class I with 11.71 % that corresponds to ≤ 100,000 and class II with 16.18 % with ≤ 300,000.

Furthermore the Table 1, converted in Figure 1, to comparison four TBC classes. Whereas the counting results for SC for a total of 5,369 tests, are shows in Table 2, respectively in Figure 2, which are known comparison between four classes, that class Extra resulted with 2,274 samples, class I 846 samples, class II 1,253 samples and class III 996 samples. On the case where SC were counted, class Extra dominates with 42.35 % which is ≤ 300,000, then class II with 23.34 % which is ≤ 500,000 followed by class III with 18.56 % with ≤ 750,000 and the bottom class I with 15.75 % which is ≤ 400,000. (A.I., No.13/2011). In order to compare the results of TBC with SC, it is significant that on both cases class Extra dominates

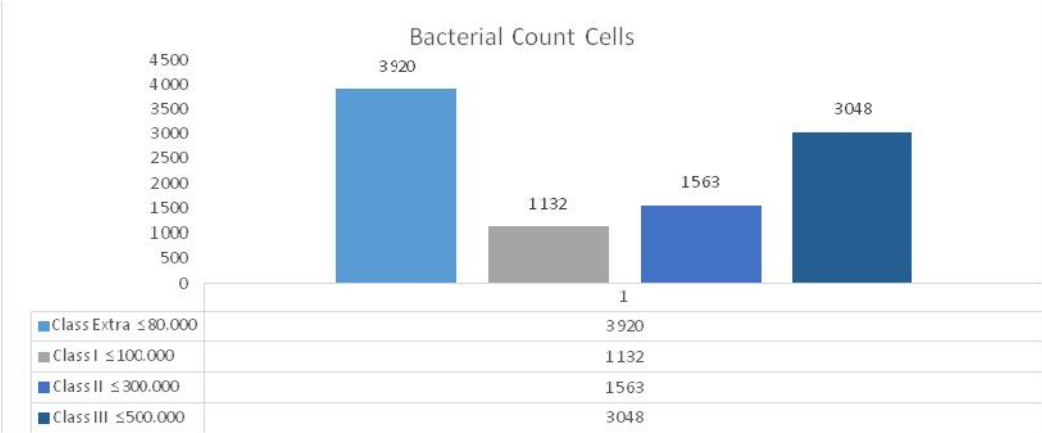
над други класове, които освен бактериалното натоварване също и в част от соматичните клетки, млякото в Косово показва до 42.35%. Клас III е по-характерен с ОББ в сравнение със СК, ако разгледаме процент от пробите въз основа на класове. Следователно, качеството на млякото е добро за параметрите на ОББ и СК, ако клас Екстра е 41.45% (40.56 + 42.35 / 2) и клас I с 13.73% (11.71 + 15.75 / 2). По този начин клас Екстра и клас I представляват общо 55.18% от всички тествани проби за качество на млякото при преброяване на ОББ и СК. В предишни проучвания се установи, че при установяване на <200 000 СК/ml в млякото няма наличие на патогенни причини за мастит, за разлика от > 300 000 QS/ml в млякото (Smith, 1996). Според стандартната процедура, не са изследвани 534 проби, понеже суровото мляко показва повече от 5% мазнини. Отклонението на границите от нормите на всеки клас най-вероятно се влияе от хигиената в обора, околната среда, животните, оборудването, възпаления на животните, остър или подостър мастит, тъй като чрез процеса на доене не са спазени зоотехническите принципи на хигиена. Докато на ТВС сме извършили начина на високи микробни натоварвания или необходимите мерки за намаляване на замърсяването чрез околната среда, оборудване, персонал или животно, не бяха предприети навреме (Bijo, 2012; Dibra, 2011).

other classes which except the bacterial load also in part of somatic cells, milk in Kosovo results with 42.35 %.

Class III is more characterized by TBC in comparison to SC if we look into percentage of samples based on classes. Therefore, milk quality for parameters of TBC and SC results as a good quality if we refer to class Extra with 41,45% (40.56+42.35 / 2) and class I with 13.73 % (11.71 + 15.75 / 2). Thus class Extra and class I represents a total of 55.18 % out of entire samples tested for quality of milk on counting TBC and SC. On previous studies it results that detection of < 200,000 SC/ml in milk there is no existence of pathogenic causes of mastitis, whereas > 300,000 QS/ml in milk (Smith, 1996). According to standard procedure 534 samples were not tested because the raw milk resulted on more than 5 % fat. The deviation of limits from the norms of each class most probably is impacted by the hygiene of stable, environment, animal, equipment, inflammation of the animal, acute or subacute mastitis because through the milking process zootechnical principles of hygiene were not respected. Whereas on TBC we have performed on the manner of high microbial loads or necessary measures to decrease the contamination through the environment, equipment, personnel or animal, were not taken on due time (Bijo, 2012; Dibra, 2011).

Таблица 1. Общ брой бактериални клетки и тяхното категоризиране
Table 1. Presentation of total samples for bacterial count cells detection and their categorization

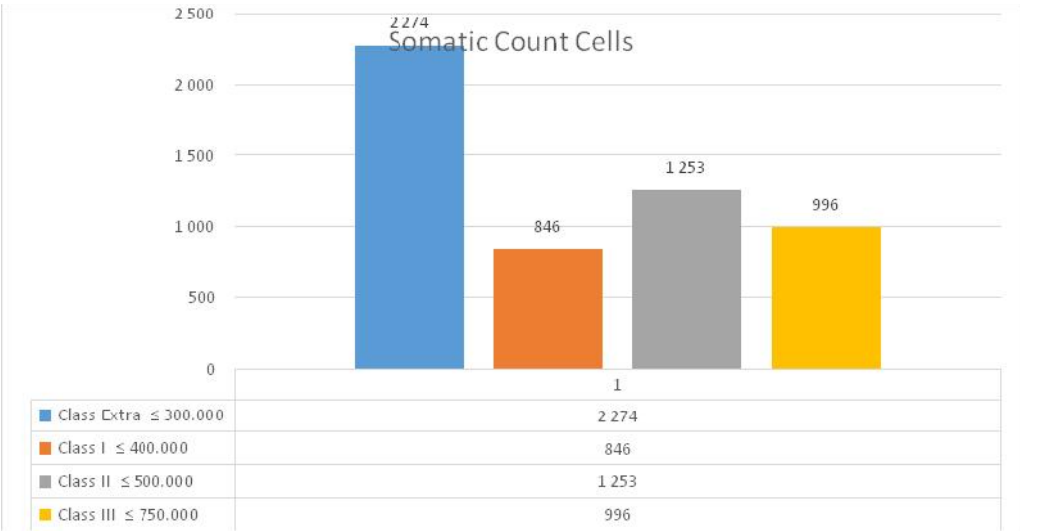
Брой бактериални клетки / Bacterial count cells									
	Клас Екстра / Class Extra ≤ 80.000		Клас I / Class I ≤ 100.000		Клас II / Class II ≤ 300.000		Клас III / Class III ≤ 500.000		Общо проби Total samples
	Проби Samples	%	Проби Samples	%	Проби Samples	%	Проби Samples	%	
Общо Total	3,920	40.56	1,132	11.71	1,563	16.18	3,048	31.55	**9,663**



Фиг. 1. Сравнение на броя бактерии в четирите класа
Fig. 1. Samples comparison by four classes on Bacterial Count Cells

Таблица 2. Общ брой соматични клетки и тяхната категоризация
Table 2. Presentation of total samples for somatic count cells detection and their categorization

Брой соматични клетки / Somatic count cells									
	Клас Екстра / Class Extra ≤ 300.000		Клас I / Class I ≤ 400.000		Клас II / Class II ≤ 500.000		Клас III / Class III ≤ 750.000		Общо проби Total samples
	Проби Samples	%	Проби Samples	%	Проби Samples	%	Проби Samples	%	
Общо Total	2,274	42.35	846	15.75	1,253	23.34	996	18.56	**5,369**



Фиг. 2. Сравнение на броя на соматичните клетки в четирите класа
Fig. 2. Samples comparison by four classes on Somatic Count Cells

ИЗВОДИ

Пробите включваха всички стопанства въз основа на програмата за прозрачност, поради което все още не може да се направи заключение на регионално ниво относно места с по-високо, средно или ниско качество на млякото. Лицето, което взима проби трябва да прилага протоколите за вземане на проби, със сигурност върху повече замърсени точки, потенциално или средно замърсени, за да вземе проби със силно въздействие върху аспекта на качеството на млякото. Изводите са:

- Резултатите са еквивалентни, на места на които през последните години имаше напредък във връзка с повишаването на качеството на млякото чрез класове, а земеделските стопани се възползват от различни програми.
- Настоящите данни не показват голямо отклонение във връзка с националното и европейското законодателство.
- Според докладите, качеството на млякото в Косово увеличава значението си.
- Поставянето на по-високи изисквания за определяне на класовете се оказа успешно по отношение на качеството на млякото.
- Значителен брой стопанства изглеждат в добро инфраструктурно състояние и благодарение на подкрепата чрез безвъзмездни средства или субсидии.
- Добрите хигиенни условия в стопанствата показват, че фермерите са въвели добри хигиенни и зоотехнически практики на ниво ферма, животни или доилни устройства.
- Организационните програми чрез асоциации и общности по интереси показват растеж в тази индустрия.

CONCLUSIONS

Up to now the sampling included all the country farms based on the transparency program, and we may not conclude yet on a regional level which places we are dealing with higher milk quality, medium or low. The sampling person should apply the sampling protocols, certainly on more contaminated points potentially or averagely contaminated, to take samples with solid impacts on the aspect of milk quality. The conclusions are:

- Results are equivalent, where last years we had progress in relation to milk quality increase through classes and farmers benefit by various programs.
- Present data do not show a big deviation in relation to the National and European Legislation.
- The trend of milk quality in Kosovo presents significant increase in report.
- Setting higher requirements for determination of classes has shown successful on the aspect of milk quality.
- A considerable number of farms appears on a good infrastructural condition and thanks to the support through grants or subsidies.
- Good hygiene conditions on farms shows that farmers have implemented good hygiene and zootechnic practices on farm level, animal or milking devices.
- Organization programs through associations and communities of interest are showing results on growth of this industry.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Administrative Instruction - AI**, 2006. Quality Standards and Categorization of Fresh Milk. Ministry Agriculture Forestry Rural Development - MAFRD No. 20/2006 amending No.13/2011, Pristina, Kosovo. www.auv-ks.net
2. **Bijo, B.**, 2012. Food Hygiene Products on Animal Origin, Agricultural University of Tirana, Tirana, Albania. ISBN 978-9928-4063-3-0 www.ubt.edu.al

3. **Codex Alimentarius - CAC**, 2004. Hygienic Practice for Milk and Milk Products RCP 57-2004.
4. **Dibra, F.**, 2011. Detailed and Contemporary Knowledge on Milk Treatment and Industrialization PEGI, Tirana, Albania. ISBN: 978-99956-58-62-5 www.botimepegi.com
5. **More, S.J.**, 2009. Global Trends in Milk Quality: Implications for the Irish Dairy Industry. *Irish Veterinary Journal,* 62 (Suppl 4), S5.
6. **Pereira, P. C.**, 2014. Milk Nutritional Composition and Its Role in Human Health. *Nutrition*, 30(6), 619-627.
7. **Regulation**, 2011. Laying down Specific Rules on Hygiene of Food of Animal Origin, Government of Republic of Kosovo - GRK No. 12/2011, Pristina, Kosovo. www.auv-ks.net
8. **Schukken, H.Y.**, **D.J. Wilson**, **F. Welcome, L. Garrison-Tikofsky and R.N. Gonzalez**, 2003. Monitoring Udder Health and Milk Quality Using Somatic Cell Counts. Veterinary Research. *EDP Sciences*. 34 (5), 579-596.
9. **Schwarz, D.**, **U.S. Diesterbeck**, **K.H. Failing**, **S. König**, **K. Brügemann**, **M. Zschöck**, **W. Wolter and C-P. Czerny**, 2010. Somatic Cell Counts and Bacteriological Status in Quarter Foremilk Samples of Cows in Hesse, Germany-A longitudinal study. *J. Dairy Sci.*, 93(12), 5716-5728.
10. **Kosovo Milk Producers Associate** - **KMPA**, 2019. Prishtina, Kosovo. www.shpqk.com
11. **Smith, K.L.**, 1996. Standards for Somatic Cells in Milk: Physiological and Regulatory. IDF Mastitis Newsletter, No. 21, 7-9.
12. **Standard Operative Procedure** – **SOP**, 2012. Detection of the number of bacterial colonies in milk SOP 5.4. M-1, Food and Veterinary Laboratory, Pristina, Kosovo.
13. **Standard Operative Procedure** - **SOP**, 2012. Detection of the number of somatic cells in milk SOP 5.4. M-2, Food and Veterinary Laboratory, Pristina, Kosovo.
14. **Standard Operative Procedure** - **SOP**, 2019. Unprocessed (fresh) milk sampling in dairy farm No.P.355/6, Food and Veterinary Agency, Pristina, Kosovo.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (1), 22-32 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Оценка на качеството на краве мляко и консумация на биологичноактивни мастни киселини

Силвия Иванова[1]*, Любомир Ангелов[1], Даниела Митева[1], Николай Марков[2], Ели Костадинова[1]

[1]Институт по криобиология и хранителни технологии, 1407 София, България
[2]Институт по планинско животновъдство и земеделие, 5600 Троян, България

Assessment of Cow's Milk Quality and Consumption of Bioactive Fatty Acids

Silviya Ivanova[1]*, Lujbomir Angelov[1], Daniela Miteva[1], Nikolay Markov[2], Eli Kostadinova[1]

[1]Institute of Cryobiology and Food Technology, 1407 Sofia, Bulgaria
[2] Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 5600 Troyan, Bulgaria
**E-mail: sylvia_iv@abv.bg*

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Извършена е оценка на физико-химичния и мастнокиселинния състав на краве мляко и консумацията му при храненето на човека. Изследваните крави млека се характеризират като хранителен продукт с ниско съдържание на транс мастни киселини (от 0,13 до 0,20 g/100g продукт) и високо съдържание на наситени мастни киселини. Среднодневно жените консумират с 11,8% повече прясно мляко в сравнение с мъжете. Средно дневният прием на мононенаситени мастни киселини с млякото е 3,61 g/ден при жените и 3,23 g/ден при жените с млякото. Дневната консумация на биологичноактивните мастни киселини е 0,08 g/ден CLA при жените и 0,07 g/ден CLA при мъжете, 0,27 g/ден ваксенова киселина при жените и 0,24 g/ден при мъжете, омега-3 мастни киселини при жените -

SUMMARY

The physicochemical and fatty acid composition of cow's milk and their consumption in human nutrition were evaluated. The milk cows studied were characterized as a low fat trans fatty acid food product (from 0.11 to 0.21 g/100g product) and high saturated fatty acid content.

On average daily women consume 11.8% more milk than men. The average daily intake of monounsaturated fatty acids with milk was 3.61 g/day to men and 0.46 g/day to women with milk.

Daily intake of biologically active fatty acids was 0.08 g/day CLA to women and 0.07 g/day CLA to men, 0.27 g/day vaccenic acid to women and 0.24 g/day to men, omega-3 fatty acids to women - 0.09 g/day and to men 0.08 g/day, trans fatty

0,09 g/ден, а при мъжете 0,08 g/ден, транс мастни киселини 0,46 g/ден при жените и 0,42 g/ден при мъжете, 2,94 g/ден цис мастни киселини при жените и 2,63 g/ден при мъжете.

Ключови думи: физикохимичен състав, CLA, индекси, ТМК

acids was 0.46 g/day to women and 0.42 g/day to men, 2.94 g/day cis fatty acids to women and 2.63 g/day to men.

Key words: physicochemical composition, CLA, indexes, TFA

УВОД

Млякото като основна част от храната на хората е източник на хранителни компоненти, които могат да бъдат обогатени и/или променени. То е пълноценна и безусловно необходима за човека храна, която съдържа всички необходими елементи за поддържане на живота и растежа му (Petrova, 2007; Boycheva et al., 2007). За пълноценно мляко се смята млякото, от което не са извлечени никакви хранителни вещества, нито са добавени други. Породните различия (Mihailova and Odjakova, 2006) силно влияят върху добива на мляко и продължителността на лактацията при преживните животни. С нарастващ интензитет посочените по-горе фактори са на вниманието, както на изследователи (Cabiddu et al., 2005; Bauman and Griinari, 2003), така и на консуматори, особено тези свързани с храненето на животните и човека.

Hamiti et al., (2014), установяват при краве мляко от пет различни района на Албания съдържание на мазнини в суровото мляко средно 3,85%, протеин 2,86%, СБО 8,77%, плътност 1,0298 kg/l и киселинност по Тьорнер - 17,37.

Съдържанието на мастни киселини в млечната мазнина на различните видове преживни животни не е еднакво. В млечната мазнина са идентифицирани 142 мастни киселини, от които 62,8% са наситени, 34,6% ненаситени цис и транс изомерии, 2,2% киселини с разклонена въглеродна верига. Млякото и месото на преживните животни са богат източник на ваксенова, олеинова и спрегната линолова киселина, които се получават при биохидрогенирането

INTRODUCTION

Milk, as a major part of human food, was a source of nutrients that can be enriched and/or modified. It was a complete and unconditionally necessary human food, which contains all the necessary elements for maintaining life and growth (Petrova, 2007; Boycheva et al., 2007). Whole milk was considered the milk from which no nutrients have been extracted or added. Breed differences (Mihailova and Odjakova, 2006) strongly influence milk production and lactation duration in ruminants.

With increasing intensity the aforementioned factors were on the attention of both researchers (Cabiddu et al., 2005; Bauman and Griinari, 2003) and consumers, especially those related to animal and human nutrition.

Hamiti et al., (2014) found that cow's milk from five different regions of Albania had a fat content of raw milk on average 3.85%, protein 2.86%, SNF 8.77%, density 1,0298 kg/l and acidity according by Turner - 17,37.

The fatty acid content of the milk fat from different types of ruminants was not the same. 142 fatty acids have been identified in milk fat, 62.8% of which were saturated, 34.6% of unsaturated cis and trans isomers, 2.2% of branched-chain acids.

Ruminant milk and meat were rich sources of vaccinic, oleic and conjugated linoleic acid, which were produced by the biohydrogenation of linoleic acid under the action of Δ9 desaturase in the rumen of

на линоловата киселина под действието на Δ9 десатураза в търбуха на преживните (Rego et al., 2004).

Концентрацията на CLA в кравето мляко нараства чрез промяна в храненето, в частност използването на добавка от полиненаситени мастни киселини (Chiliard et al, 2000). Причината за нарастване количеството на спрегнатата линолова киселина при пасищно отглеждане на преживните животни все още не е добре проучена. Въпреки това се смята, че пасищата съдържат високо ниво на ПНМК/PUFA, (полиненаситени мастни киселини) които са източник на CLA и ваксенова киселина. Суплементирането на млечните крави с концентрати при пасищно отглеждане, определя качеството и количеството на млякото. Храненето на паша при изключване на общата смесена дажба (концентратна смеска) води до нарастване нивото на CLA в млечната мазнина (Kelly et al., 1998; Rego et al., 2004).

Ivanova et al., (2012) при изследването на мастнокиселинния състав на млечна мазнина от крави порода Българско родопско говедо (порода за мляко) при оборно и преминаването към пасищно отглеждане, установяват че, наситените мастни киселини нарастват в резултат на оборно хранене от 68.95 до 75.32 g/100g мазнина и намаляват до 69.66 g/100g мазнина след преминаването им към пасищно отглеждане с добавка от комбиниран фураж и люцерна. CLA в кравето мляко от порода българско родопско говедо при хранене с концентриран фураж варира от 0.24 до 0.45 g/100g мазнина и нараства двукратно при свободно пасищно отглеждане. Кравето мляко получено от порода българско родопско говедо е с ниско съдържание на омега-3 мастни киселини по време на оборно отглеждане - от 0.69 до 0.58 g/100g мазнина, което в резултат на преминаване на свободна паша нараства двукратно (спрямо месец април) до 1.39 g/100g мазнина. Кравето мляко се характеризира с много добро

ruminants (Rego et al., 2004).

The concentration of CLA in cow's milk was increased by changes in diet, in particular the use of a supplement of polyunsaturated fatty acids (Chiliard et al, 2000). The reason for the increase in the amount of fused linoleic acid in grazing on ruminants has not yet been well understood. However, pastures were considered to contain high levels of PUFAs (poly-unsaturated fatty acids), which were the source of CLA and vaccenic acid.

Supplementation of dairy cows with concentrates in pasture farming determines the quality and quantity of milk. Feeding on the pasture grass when excluding total mixed ration (concentrate mix) leads to an increase in the level of CLA at the milk fat (Kelly et al., 1998; Rego et al., 2004).

Ivanova et al., (2012) were studied of the fatty acid composition in milk fat from cows of the Bulgarian Rhodope cattle (breed for milk) during pasture grass and the transition to grazing, found that saturated fatty acids increased as a result of feeding from 68.95 to 75.32 g/100g fat and reduced to 69.66 g/100g fat after switching to grazing with the addition of compound feed and alfalfa.

The CLA in the cow's milk from the Bulgarian Rhodope cattle breed, when fed with concentrate mix ranges from 0.24 to 0.45 g/100g fat and increases twice during free pasture grass period.

Cow's milk obtained from the breed of Bulgarian Rhodope cattle had low omega-3 fatty acids content during the indoor rearing from 0.69 to 0.58 g/100g fat, which as a result of passage of free pasture increases twice (compared to April) to 1.39 g/100g fat.

Cow's milk was characterized by a very good ratio of ω-6:ω-3 and ranges from

съотношение на ω-6:ω-3 и варира от 3.42 до 3.72, т.е. получените млека имат нисък рисков фактор за човешкото здраве.

Извършена е оценка на физико-химичния и мастнокиселинния състав на краве мляко и консумацията му при храненето на човека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследванията са проведени в частна ферма в хода на лактацията. Кравите (БРГ) са отглеждани при естествени пасищни условия (май-юли) и са изследвани индивидуални проби мляко (n=6).

Методи за анализ:

- Сухо вещество - БДС 1109:1989, ISO 9622
- Общ белтък - ISO 9622, БДС EN ISO 8968-1:2002
- Мазнини - БДС EN ISO 1211:2002, ISO 9622

Екстракцията на общи липиди е извършена по метода на Roese & Gottlieb за. Метиловите естери на мастните киселини (FAME) бяха анализирани с помощта на газов хроматограф Shimadzu-2010 (Kyoto, Japan).

Качествената оценка на мастната фракция включва следните показатели: липиден превантивен скор, атерогенен и тромбогенен индекс(Ulbricht and Southgate, 1991), съотношението между хипер- и хипохолестеролемични мастни киселини, транс мастни киселини и количеството на наситените мастни киселини (Regulation (EC) No 1924/2006).

3.42 to 3.72, i.e. the milk obtained has a low risk factor for human health.

The physicochemical and fatty acid composition of cow's milk and their consumption in human nutrition were evaluated.

MATERIAL AND METHODS

The studies were conducted on a private farm during lactation. Cows (BRG) were raised under natural grazing conditions (May-July) and individual milk samples were tested (n = 6).

Methods of analysis:

- Total solids - BSS1109:1989, ISO 9622
- Protein - ISO 9622, BSS EN ISO 8968-1:2002
- Fat - BSS EN ISO 1211:2002, ISO 9622

Extraction of total lipids was performed by the method of Roese & Gottlieb for milk. Fatty acid methyl esters (FAME) were analyzed using a Shimadzu-2010 gas chromatograph (Kyoto, Japan).

The qualitative assessment of the fat fraction comprises the following parameters: lipid preventive score, atherogenic and thrombogenic index (Ulbricht and Southgate, 1991), the ratio between hyper- and hypocholesterolemic fatty acids, trans fatty acids and the amount of saturated fatty acids (Regulation (EC) No 1924/2006).

ЛПС= ОЛ +2x НМК- МНМК- 0,5 ПНМК / **LPS**= FAT +2x SFA- MUFA- 0,5 PUFA
AI= 12:0+ 4Ч14:0 +16:0 /[УMUFAs+PUFA n6+PUFA n3]
TI=(14:0+16:0+18:0)/[0.5ЧУMUFAs+0.5ЧPUFA n6+3ЧPUFA n−3+PUFA n3/ PUFA n6]
h/H=(C18:1n-9+C18:1n-7+C18:2n-6+C18:3n-3+C18:3n-6+C20:3n-6+C20:4n-6+C20:5n-3+C22:4n-6+C22:5n-3+C22:6n-3)/(C14:0+C16:0)

Изчисляването на дневния прием на есенциални мастни киселини с помощта на Basket-метода респективно Duplicate-метода при населението обитаващо планинските райони на Средните Родопите има важно значение за

The calculation of the daily intake of essential fatty acids was used the Basket method and the Duplicate method respectively in the population inhabiting the mountainous regions of the Middle Rhodopes was important for the

консумацията на биологично активни и антиканцерогенни вещества чрез млякото. В експеримента участват шест жени и шест мъже в седем последователни дни за всички изпитвани лица. Началото на дубликат експеримент е независим от седмицата ден. Всички консумирани биологичноактивни мастни киселини чрез млякотоса изчислени чрез използване на метода на „потребителската кошница".

consumption of biologically active and anticancer substances via milk.

The experiment involved six women and six men in seven consecutive days for all subjects. The start of a duplicate experiment was independent of the weekday. All bioactive fatty acids consumed by milk, calculated using the "consumer basket" method.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Общите мазнини в изследваните крави млека варират от 3,24 до 5,10%, съдържанието на протеин и лактоза е сравнително постоянно. Сухото вещество нараства в хода на лактацията от 12,16 до 13,39%. Сухият безмаслен остатък намалява в средата на разглеждания период до 4,71 и нараства до 8,31% в края на лактацията.

RESULTS AND DISCUSSION

The total fat in the milk cows tested ranged from 3.24 to 5.10%, the protein and lactose content was being relatively constant. The dry matter increases in the course of lactation from 12.16 to 13.39%. The solids non-fat residue decreased to 4.71 in the middle of the period considered and increased to 8.31% at the end of lactation.

Таблица 1. Физикохимичен състав на краве мляко
Table 1. Physicochemical composition of cow's milk

	Май / May		Юни / June		Юли / July	
	X	SD	X	SD	X	SD
Мазнини / Fat,%	3.24	1.45	4.26	0.67	5.10	1.07
Протеин / Protein, %	3.48	0.42	3.45	0.23	3.22	0.24
Лактоза / Lactose, %	4.47	0.18	4.48	0.19	4.32	0.31
Сухо вещество / Total solids, %	12.16	1.92	12.95	0.65	13.39	1.41
Сух безмаслен остатък / Solid non-fat, %	8.91	0.51	4.71	5.93	8.31	0.52
Точка на замръзване / Freezing point, ^{o}C	0.53	0.01	0.53	0.01	0.53	0.01

Мастнокиселинният състав на млечната мазнина е представен от Таблица 2. Наситените мастни киселини нарастват от 64,67 до 66,06 g/100g мазнина, докато мононенаситените и полиненаситените мастни киселини в средата на периода намаляват и в края нарастват отново. Транс мастните киселини в изследваните крави млека намаляват в хода на лактацията с тенденция на понижаване от 6,33 g/100g мазнина до 3,82 g/100g мазнина, докато при цис изомерите се наблюдава обратната тенденция.

The fatty acid composition of milk fat was presented in Table 2. Saturated fatty acids increase from 64.67 to 66.06 g/100g fat, while monounsaturated and polyunsaturated fatty acids decrease in the middle of the period and eventually increase on the end of period again. The trans fatty acids in the milk cows analysed decreased during the lactation with a tendency to decrease from 6.33 to 3.82 g/100g fat, while the opposite trend was observed with the cis isomers.

Таблица 2. Мастнокиселинен състав на краве мляко (g/100g мазнина)
Table 2. Fatty acid composition of cow's milk (g/100g fat)

МК / FA	Май / May		Юни / June		Юли / July	
	X	SD	X	SD	X	SD
SFA	64.67	4.51	71.14	8.99	66.96	2.94
MUFA	29.70	4.33	24.87	9.74	28.29	1.50
PUFA	4.13	0.68	2.91	0.86	3.76	0.49
TFA	6.33	4.53	2.59	1.34	3.82	1.53
CFA	21.87	3.48	21.18	8.74	23.47	0.16
Σ CLA	1.20	0.61	0.55	0.07	0.79	0.36
Σ n-3	0.72	0.13	0.61	0.04	0.67	0.11
Σ n-6	2.35	0.23	1.86	0.89	2.49	0.02
Σ n-6/ Σ n-3	3.35	0.55	3.12	1.67	3.80	0.62

Съдържанието на CLA в изследваните млечни проби намалява в хода на лактацията от 1,13 до 0,74 g/100g мазнина. Омега-3 мастните киселини намаляват незначително от 0,72 до 0,67 g/100g мазнина, за сметка на омега-6 мастните киселини, които нарастват от 2,35 до 2,49 g/100g мазнина. Съотношението между биологично активните омега-6 и омега-3 мастни киселини е най-високо в края на лактацията - 3,80 и остава в границите на препоръчаното от диетолозите това съотношение да е до 5.

Есенциалните мастни киселини от групите ω-3 и ω-6 са жизнено важна компонента на храненето при човека и животните. Установен е значителен дисбаланс между двете групи мастни киселини, при който нивото на ω-3 киселините е много ниско. Линоловата и линоленовата киселина са важни за човека, но не се синтезират в неговия организъм (есенциални мастни киселини). Балансираният прием на ω-6 и ω-3 мастни киселини, може да бъде осъществен само, чрез предварителен подбор на храните и контрол върху състава на постъпващите есенциални мастни киселини в организма (Larsson et al., 2004). Главните функции на ω-3 и ω- 6 мастните киселини са свързани с натрупване на енергия в клетката, поддържане на телесната температура, предпазване на кожата от изсушаване,

The CLA content of the milk analysis decreased from 1.13 to 0.74 g/100g fat during the lactation. Omega-3 fatty acids reduce slightly from 0.72 to 0.67 g/100g fat, at the expense of omega-6 fatty acids, which increase from 2.35 to 2.49 g/100g fat.

The ratio of biologically active omega-6 to omega-3 fatty acids was highest at the end of lactation-3.80 and remains within the range recommended by nutritionists to this ratio up to 5.

The essential fatty acids from ω-3 and ω-6 groups were a vital component of human and animal nutrition. There was a significant imbalance between the two fatty acid groups, with the ω-3 acid level being very low. Linoleic and linolenic acid were important for humans, but they were not synthesized in their body (essential fatty acids).

Balanced intake of ω-6 and ω-3 fatty acids can only be achieved by pre-selecting foods and controlling the composition of the essential fatty acids entering the body (Larsson et al., 2004).

The main functions of ω-3 and ω-6 fatty acids were related to the accumulation of energy in the cell, maintaining the body temperature, protecting the skin from drying out, reproduction of certain

възпроизводство на определени хормони, необходими за клетките, за клетъчната биохимия и за метаболизма на енергията, поддържат сърдечно-съдовата и имунната системи (Buckley et al., 2005, Conor , 2000).

Липидният превантивен скор, атерогенен и тромбогенен индекс варират в изследваните крави млека, като най-висока стойност се отчита в края на лактацията 9,93 за ЛПС, и най-ниска за атерогенния индекс и тромбогенния през месец май, съответно 1,88 и 2,05. Съотношението между хипер- и хипохолестеролемични мастни киселини (h/H) през изследвания период са с най-висока стойност през м. юли- 0,75. Атерогенният индекс даващ взаимовръзката между сумата на основните наситени и ненаситени мастни киселини за животински продукти е от 0.5 до 1.0 (Senso et al., 2007), докато холестеролемичният индекс (h/H), трябва да е над 1.00 (Ivanova and Hadzhinikolova, 2015).

Съдържанието на транс мастни киселини намалява от 0,20 до 0,13 g/100g продукт през лактационния период, докато съдържанието на наситени мастни киселини нараства от 2,44 до 3,41 g/100g продукт (Таблица 3).

hormones needed for the cells, cellular biochemistry and energy metabolism, support the cardiovascular and immune systems (Buckley et al., 2005; Conor, 2000).

The lipid preventive scor, atherogenic and thrombogenic index varied in the milk cows studied, with the highest value reported at the end of lactation 9.93 for LPS, and the lowest for the atherogenic and thrombogenic index on May, respectively 1.88 and 2.05. The ratio of hyper- and hypocholesterolemic fatty acids (h/H) during the study period was highest on July - 0.75. The atherogenic index was giving the correlation between the sum of basic saturated and unsaturated fatty acids for animal products was from 0.5 to 1.0 (Senso et al., 2007), while the cholesterolemic index (h / H) must be above 1.00 (Ivanova and Hadzhinikolova, 2015).

Trans fatty acid content decreased from 0.20 to 0.13 g/100g product during the lactation period, while saturated fatty acid content increased from 2.44 to 3.41 g/100g product (Table 3).

Таблица 3. Качествени показатели на мастната фракция при краве мляко, получено от животни отглеждани на паша (g/100g продукт)
Table 3. Qualitative indicators of the fat fraction in cow's milk obtained from grazing animals (g/100g product)

Показатели Indicators	Май / May		Юни / June		Юли / July	
	X	SD	X	SD	X	SD
LPS	6.84	3.95	9.04	1.23	9.93	2.99
AI	1.88	0.28	2.30	0.07	1.96	0.34
TI	2.05	0.37	2.27	0.31	2.22	0.22
h/H	0.69	0.09	0.65	0.04	0.75	0.15
TFA	0.20	0.11	0.16	0.02	0.13	0.07
SFA+TFA	2.44	1.33	3.03	0.30	3.41	1.06

Приемът на хранителни продукти с високо съдържание на наситени мастни киселини води до сърдечно-съдови заболявания, които са основна причина за смъртността в Европа,

The intake of foods with high content of saturated fatty acids leads to cardiovascular diseases, which were the leading cause of mortality in Europe, therefore the unsaturated fatty acids and

поради което интерес за науката представляват ненаситените мастни киселини и балансът в храненето между омега-3 мастните киселини с основен представител α-линоленовата киселина и омега-6 мастните киселини с основен представител линоловата киселина (C18:2). Високото съотношение между двете групи мастни киселини е предпоставка за коронарна болест на сърцето и образуване на кръвни съсиреци, водещи до инфаркт, затова е препоръчително съотношението да не надвишава четири единици (Pajor et al., 2009; Williams, 2000).

Изследването за дневната консумация на мляко се базира на човешката популация обитаваща района на с. Тарън. Световните организации WHO/FAO/MAAE препоръчват два различни метода за определяне приемането на органични и неорганични компоненти. От една стана съществуват калкулационни методи за изчисляване чрез проучване на потребителската кошница, общата диета и др., а от друга страна провеждането на аналитични процедури под формата на дубликат метод. И двете методики се приемат като надеждни за получаването на представителни стойности за консумацията на хранителните компоненти. Въпреки това, тестовете проведени до сега показват, че в резултат на аналитичното определяне на дневното потребление на основни вещества чрез Дубликатния метод не са в съответствие с изчислените по Баскет метода.

Резултатите от изследването показват значителни разлики в дневния прием на мляко от различните участници. Средно-дневно жените консумират с 11,8% повече прясно мляко в сравнение с мъжете (Фигура 1).

the nutritional balance between omega-3 fatty acids, the major representative α-linolenic acid, and omega-6 fatty acids, with the main representative linoleic acid, were the interest in science (C18:2).

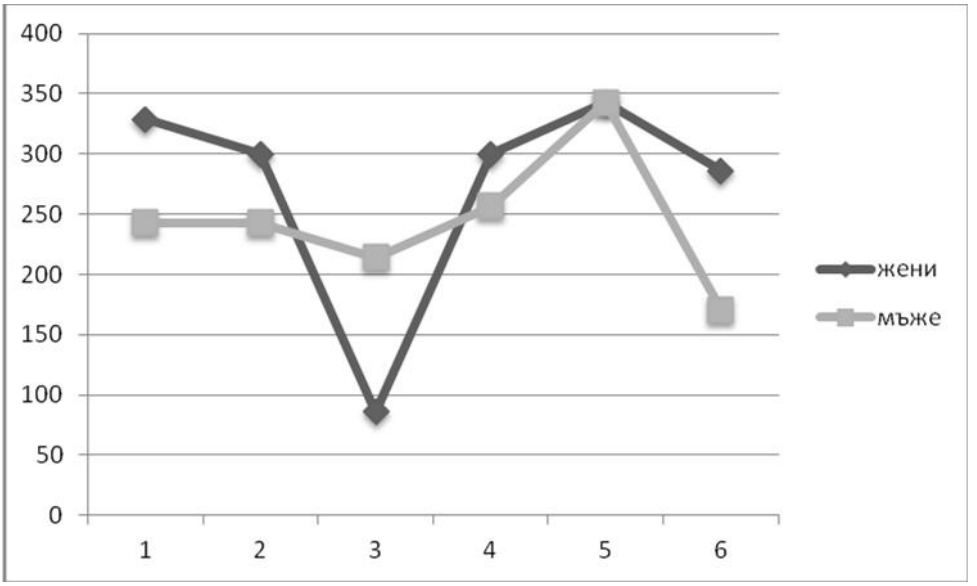
The high ratio between the two fatty acid groups was a prerequisite for coronary heart disease and the formation of blood clots leading to a heart attack, so it was recommended that the ratio not exceed four units (Pajor et al., 2009; Williams, 2000).

The daily milk consumption survey was based on the human population living in the Taran village. The WHO/FAO/MAEA World Organization recommends two different methods for determining the uptake of organic and inorganic components.

On the one hand, there were calculation methods for calculating by examining the consumer basket, general diet, etc., and on the other hand, carrying out analytical procedures in the form of a duplicate method. Both methodologies were considered reliable for obtaining representative values for the consumption of nutrients.

However, the tests conducted so far show that, as a result of the analytical determination of the daily intake of basic substances by the Duplicate method, they were not in accordance with the Basket method.

The study results show significant differences in the daily intake of milk by different participants. On average, women consume 11.8% more milk than men (Figure 1).



Фиг. 1. Среднодневна консумация на мляко при жени и мъже (ml)
Fig. 1. Average daily consumption of milk in women and men (ml)

Изчисляването на общата консумация на мазнини чрез млякото показва от една страна дневната консумация на мазнини при жените и мъжете, а от друга страна разпределението на количества на основните класове мастни киселини (Таблица 4). Резултатите показват някои закономерности, че жените консумират средно-дневно значително повече наситени мастни киселини чрез млякото в сравнение с мъжете.

The calculation of total fat consumption by milk shows, on the one hand, the daily fat intake of women and men, and on the other side the distribution of quantities of major fatty acid classes (Table 4).

The results show some patterns that women consume, on average, significantly more saturated fatty acids via milk than men during the day.

Таблица 4. Дневна консумация на мастни киселини чрез млякото при жени и мъже (g/ден)
Table 4. Daily consumption of fatty acids via milk in women and men (g/day)

Мастни киселини Fatty acids	Жени / Women			Мъже / Men		
	X	min	max	X	min	max
SFA	9.28	2.91	11.62	8.30	5.79	11.62
MUFA	3.61	1.13	4.52	3.23	2.25	4.52
PUFA	0.47	0.15	0.59	0.42	0.29	0.59
∑ n-3	0.09	0.03	0.11	0.08	0.06	0.11
∑ n-6	0.31	0.10	0.39	0.28	0.19	0.39
n-6 / n-3	3	3	3	3	3	3
CLA 9c,11t	0.08	0.03	0.10	0.07	0.05	0.10
C-18:1t11	0.27	0.08	0.34	0.24	0.17	0.34
∑ C-18:1Trans-FA	0.46	0.15	0.58	0.42	0.29	0.58
∑C-18:1cis-FA	2.94	0.92	3.68	2.63	1.84	3.68

Приемът на MUFA чрез млякото е в диапазона от 1,13 g/ден до 4,52 g/ден, а при полиненаситените от 0,15 до 0,59 g/ден. Дневният прием на CLA с млякото варира от 0,03 до 0,10 g/ден и на вакценова киселина от 0,08 до 0,34 g/ден. Дневната консумация на омега-3 мастни киселини е в диапазона от 0,03 до 0,11 g/ден, докато на омега-6 мастните киселини от 0,10 до 0,39 g/ден.

The intake of MUFA by milk was in the range from 1.13 g/day to 4.52 g/day and in polyunsaturated from 0.15 to 0.59 g/day. The daily intake of CLA with milk varies from 0.03 to 0.10 g/day and vaccine acid from 0.08 to 0.34 g/day. The daily consumption of omega-3 fatty acids ranges from 0.03 to 0.11 g/day, while the omega-6 fatty acids range from 0.10 to 0.39 g/day.

ИЗВОДИ

Обезпечаването на животните с хранителен ресурс богат на линолова и алфа линоленова киселина при пасищното отглеждане на крави води до повишаване на качеството на мастната фракция на млякото по отношение на биологично активни мастни киселини - омега-3, омега-6, CLA, транс и цис мастни киселини и се понижава количеството на наситените мастни киселини.

Изследваните крави млека се характеризират като хранителен продукт с ниско съдържание на транс мастни киселини (от 0,13 до 0,20 g/100g продукт) и високо съдържание на наситени мастни киселини.

Среднодневно жените консумират с 11,8% повече прясно мляко в сравнение с мъжете. Дневната консумация на биологичноактивните мастни киселини е 0,08 g/ден CLA при жените и 0,07 g/ден CLA при мъжете, 0,27 g/ден ваксенова киселина при жените и 0,24 g/ден при мъжете, омега-3 мастни киселини при жените - 0,09 g/ден, а при мъжете 0,08 g/ден, транс мастни киселини 0,46 g/ден при жените и 0,42 g/ден при мъжете, 2,94 g/ден цис мастни киселини при жените и 2,63 g/ден при мъжете.

CONCLUSIONS

Providing animals with nutritional resources rich in linoleic and alpha linolenic acid in grazing cows leads to an increase in the quality of the fat fraction of milk in relation to biologically active fatty acids - omega-3, omega-6, CLA, trans and cis fat acids and the amount of saturated fatty acids was reduced.

The milk cows studied were characterized as a low fat trans fatty acid food product (0.13 to 0.20 g/100g product) and high saturated fatty acid content.

On average, women consume 11.8% more milk than men. Daily intake of biologically active fatty acids was 0.08 g/day CLA in women and 0.07 g/day CLA in men, 0.27 g/day vaccinic acid in women and 0.24 g/day in men, omega-3 fatty acids in women - 0.09 g/day, and in men 0.08 g/day, trans fatty acids 0.46 g/day in women and 0.42 g/day in men, 2.94 g/day cis fatty acids in women and 2.63 g/day in men.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Bauman, D. and J. Griinari**, 2003. Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis. *Ann. Rev. Nutr*., 23, 203-227.

2. **Boycheva, S., T. Dimitrova, G. Mihailova and N. Naydenova**, 2007. Amino Acid, Fatty Acid and Mineral Composition of Yogurt from Cow and Goat Milk with Probiotic Bacterium. *Food Processing Industry Magazine,* 5, 39-41(Bg).

3. **Buckley, J., S. Burgess, K. Murphy and P. Howe**, 2005. Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Cardiovascular Risk, Exercise Performance and

Recovery in Australian Football League (AFL) Players. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 14, 1: S57.
4. **Cabiddu, A., M. Addis, S. Spada, M. Sitzia, G. Molle and G. Piedda**, 2005. The Effect of Different Legume-based Pastures on the Fatty Acid Composition of Sheep Milk with Focus on CLA. *Grassland Sci. in Eur*., 9, 1133-1135.
5. **Chiliard, Y., A. Ferlay, R. Mansbridge and M. Doreau**, 2000. Ruminant Milk Fat Plasticity: Nutritional Control of Saturated, Polyunsaturated Trans and Conjugated Fatty Acids. *Annales de Zootechnie*, 49,181-205.
6. **Conor, W.**, 2000. Importance of n-3 Fatty Acids in Health and Disease. *American journal of clinical nutrition,* 71, 171S-175S.
7. **Hamiti, X., I. Boci, P. Lazo, G. Bardhi and Xinxo**, 2014. Physicochemical Quality of Raw Milk from Dairy Factories in 5 Albanian Regions. *JNTS*, XIX (2), 47-54.
8. http://www.howtoeat.info/tema.asp?razdel=3&temaN=14&page=1
9. **Ivanova, A. and L. Hadzhinikolova**, 2015. Evaluation of Nutritional Quality of Common Carp (Cyprinus carpio L.) Lipids through Fatty Acid Ratios and Lipid Indices. *Bulg. J. Agric. Sci.,* 21(*Suppl.* 1), 180-185.
10. **Ivanova, S., T. Odjakova, D. Gadjev and L. Angelov**, 2012. Fatty Acid Composition of Cow's Milk of the Bulgarian Rhodopes Cattle Breed, during the Transition from Stable to Pasture-stable Rearing. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 15(5), 1012-1023.
11. **Kelly, M., E. Kolver, D Bauman, M. Van Amburgh and L.. Muller**, 1998. Effect of Intake of Pasture on Concentrations of Conjugated Linoleic Acid in Milk of Lactating Cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 1630-1636.
12. **Larsson, S., M. Kumlin, M. Ingelman-Sundberg and A. Wolk**, 2004. Dietary Long-chain n-3 Fatty Acids for the Prevention of Cancer: a Review of Potential Mechanisms1-3. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 935-945.
13. **Mihailova, G. and T. Odjakova**, 2006. Fatty Acid Profile of Milk from Sheep Reared in the Region of the Central Rhodope Mountains. *Ecol. and Future,* 2, 21-24 (Bg).
14. **Pajor, F., O. Galló, O. Steiber, J. Tasi and P. Póti,** 2009.The Effect of Grazing on the Composition of Conjugated Linoleic Acid Isomers and Other Fatty Acids of Milk and Cheese in Goats. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 18, 429-439.
15. **Petrova, S.**, 2007. Milk and Dairy Products (Bg).
16. **Rego, O., P. Portugal, M. Sousa, H. Rosa, C. Vouzela, A. Borba and R. Bessa**, 2004. Effect of Diet on the Fatty Acid Pattern of Milk from Dairy Cows. *Animal Research*, 53, 231-220.
17. **Senso, L., M.D. Sua´rez, T. Ruiz-Cara and M. Garcıa-Gallego**, 2007. On the Possible Effects of Harvesting Season and Chilled Storage on the Fatty Acid Profile of the Fillet of Farmed Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry,* 101, 298-307.
18. **Ulbricht, T.L. and D.A. Southgate**, 1991. Coronary Heart Disease: Seven Dietary Factors, *Lancet,* 338(8773), 985-992.
19. **Williams, C.M.**, 2000. Dietary Fatty Acids and Human Health. *Ann. Zootech*., 49, 165-180.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (1), 33-46
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Биологични ритми и репродукция

Светослава Стойчева

Институт по планинско животновъдство и земеделие, 5600 Троян, България

Biological Rhythms and Reproduction

Svetoslava Stoycheva

Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, 5600 Troyan, Bulgaria
E-mail: s.e.stoycheva@abv.bg

Review paper

РЕЗЮМЕ

Някои от бозайниците живеещи в умерените климатични пояси, където ясно се открояват четири сезона са развили способност за сезонно размножаване. По този начин те обезпечат оцеляване на поколението си, като осигурят най-благоприятните условия за неговия растеж и развитие. С това се определя основния биологичен закон, че живото поколение трябва да се появи в природата в най-благоприятния момент за неговото оцеляване. Съществуват различни средови сигнали, които животните могат да използват за да регулират размножаването си. Такива са температура на околната среда, наличието или отсъствието на храна, количеството на валежите и др. Но тези сигнали сами по себе си не са достатъчни за определяне времето на репродуктивната активност. Може би, най-важния от тези сигнали е промяната в продължителността на деня, което през различните сезони на годината променя секрецията на мелатонин. При бозайниците мелатонинът се секретира през нощта, като тази секреция е обратнопропорционална на дължината на деня и служи като сигнал, за

SUMMARY

Some mammals, which live in temperate climate zones with four seasons, have developed the ability to reproduce according the seasons. In this way, they ensure the survival of their generation by providing the most favourable conditions for its growth and development. This determines the basic biological law that the living generation must appear in nature at the most favourable moment for its survival.

There are various environmental signals that animals can use to regulate their reproduction. Such are the ambient temperature, the presence or lack of food, the precipitation amount etc.

These signals, however, are not enough to determine the period of reproductive activity. Perhaps, the change in the length of the day, which changes the melatonin secretion during the different seasons of the year is the most significant signal.

In mammals, melatonin is secreted at night, which is inversely proportional to the length of the day and serves as a signal for a change in reproductive

промяна в репродуктивната активност.

Целта на този обзор е да се разгледа накратко влиянието на биологичните ритми върху репродукцията на дребните преживни животни в умерения климатичен пояс и тяхната важност за оцеляването и преживяемостта на новородените.

Ключови думи: овце, кози, репродукция, мелатонин, биологичен часовник

activity.

The purpose of the present review is to briefly examine the impact of biological rhythms on the reproduction of small ruminants in the temperate zone and their significance for the survival and endurance of newborns.

Key words: sheep, goats, reproduction, melatonin, biological clock

ДИСКУСИЯ

Параметрите на средата са изложени на прогнозируеми флуктуации в резултат на промените в сезоните или времето на денонощието. Когато събитията и условията се повтарят в цикличен модел, способността на организма да предчувства и да се приготвя за тях е от съществено значение за неговото оцеляване. Адаптациите към средата са 2 вида: реактивни, при които адаптацията следва промените в средата и прогнозни, при които организмът предусеща промените в средата преди тяхното осъществяване (Seron-Ferre et al., 1993). Животните се адаптират към средата нагаждайки своите поведенчески, физиологични и жизнени цикли към предстоящите събития. Промените в средата се осъществяват с определена последователност и организмите се адаптират към тях предусещайки ги. Явните прояви на тези адаптации са цикличните промени във физиологичните процеси известни като циркадиални и сезонни ритми. Периодичните осцилации в биологичните функции се наблюдават при всички живи организми – едно и многоклетъчни т.е. те са вездесъщи по своя характер, въпреки че се наблюдават вариации при различните видове, сортове и породи растения и животни (Reinberg, 2003).

Този феномен не е просто реакция към промените в средата, но се контролира от ендогенно генерирани ритми синхронизирани със сигналите от околната среда. Биологичните ритми

DISCUSSION

Environmental parameters are exposed to predictable fluctuations as a result of changes in seasons or 24-hour period. When events and conditions are repeated in a cyclical pattern, the organism's ability to anticipate and prepare for them is essential to its survival. There are two types of adaptations to the environment: reactive, in which the adaptation follows the changes in the environment, and prognostic, in which the organism anticipates the changes in the environment before their realization (Seron-Ferre et al., 1993). Animals adapt to the environment by adapting their behavioral, physiological and life cycles to upcoming events. The environmental changes take place in a certain sequence and organisms adapt as they anticipate them. The cyclical changes in physiological processes known as circadian and seasonal rhythms are the visible performance of these adaptation. Periodic oscillations in biological functions are observed in all living organisms - single and multicellular, i.e. they are ubiquitous in nature, although variations are observed in different species, plant cultivars and animal breeds (Reinberg, 2003).

This phenomenon is not simply a reaction to environmental changes, but is controlled by endogenously generated rhythms synchronized with environmental signals. Biological rhythms with a period

с период от 24 ч. се наричат циркадиални ритми, които се управляват от биологичните часовници, настройвани от сигналите получавани от околната среда – зазоряване/смрачаване, активност/почивка, шум/тишина (Banerjee and Dandapat, 2010). Главните средови сигнали, които привеждат в действие биологичните часовници при повечето животни в природата са свързани с промените във фотопериода, или оптичните сигнали. Циркадиалният ритъм, който се генерира на централно и клетъчно ниво (извън биологичния таймер в супрахизматичното ядро) е регулиран от дължината на вълната, интензивността, времето на проявление и продължителността на светлинните стимули, свързани с въртенето на земята около своята ос и слънцето (Banerjee and Dandapat, 2010). Според Vitaterna et al., (2001) последователната смяна на деня и нощта помага на организма да предчувства и да се подготвя за промените на средата като се адаптира чрез проявата на адекватно поведение в съответното време на годината. Според сезона и денонощието организмите проявяват ритмична проява на биологичните променливи, изразяваща се в координирани промени в поведението и физиологията, управлявани от намиращия се в супрахизматичното ядро на хипоталамуса биологичен часовник.

Вариациите на биологичните и физиологичните функции които зависят от времето са ритмични и предсказуеми и кореспондират с промените в резистентността към различни средови агенти (Piccione and Caola, 2002). Циркадиалният часовник изпълнява ролята и на механизъм който оценява дължината на деня и нощта – така сезонният феномен, който съответства на промените в дължината на деня може да бъде прецизно регулиран (Dunlap et al., 2004) за да се синхронизира с 24 часовия цикъл на средата (Hirota et al., 2004). Промяната

of 24 hours are called circadian rhythms, which are controlled by biological clocks, adjusted by the signals received from the environment - dawn/dusk, activity/rest, noise/silence (Banerjee and Dandapat, 2010). The main environmental signals that trigger biological clocks in most animals in nature are related to changes in the photoperiod, or optical signals.

The circadian rhythm, which is generated at the central and cellular levels (outside the biological timer in the suprachiasmatic nucleus) is regulated by wavelength, intensity, period of manifestation and duration of light stimuli associated with the earth's rotation around its axis and the sun (Banerjee and Dandapat, 2010).

According to Vitaterna et al., (2001) the sequential change of day and night helps the organism to anticipate and prepare for environmental changes by adapting through adequate behavior at the appropriate period during the year.

According to the season and the day, the organisms show a rhythmic performance of biological variables, expressed in coordinated changes in the behavior and physiology, controlled by the biological clock located in the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus.

Variations in biological and physiological functions that depend on time are rhythmic and predictable and correspond to changes in resistance to various environmental agents (Piccione and Caola, 2002).

The circadian clock also acts as a mechanism that estimates the length of day and night - so the seasonal phenomenon that corresponds to changes in day length can be precisely adjusted (Dunlap et al., 2004) to synchronize with the 24-hour cycle of the environment. (Hirota et al., 2004). The change in the conditions of continuous seasonal and

в условията на непрекъснати сезонни и денонощни флуктуации на факторите на живата и неживата природа определят ритмичност в активността на различни жизнени функции в това число и на репродукцията. Много бозайници проявяват сезонни репродуктивни ритми регулирани от фотопериода. Измерването на дължината на деня при тези животни става посредством циркадиалната система и епифизата (Goldman, 2003).

Ритъмът на секрецията на мелатонин се регулира по нервен път, който включва циркадиалните колебания в супрахизматичното ядро на хипоталамуса. При бозайниците мелатонинът се секретира през нощта, като тази секреция е обратнопропорционална на дължината на деня. Секрецията на мелатонин, се променя в зависимост от дължината на деня и служи като вътрешен сигнал, който регулира промените в поведението и физиологията като по този начин гарантира сезонността в проявлението на биологичните функции (Dax and Bentley, 2018). По този начин оказва изключително влияние в процеса на еволюцията при адаптирането на животните към условията на околната среда. Крайният репродуктивен успех е основан на това, потомство да бъде създадено, така че да се роди в най-благоприятното време и да расте по времето на максимална наличност на храна. Животните са развили многобройни стратегии, осигуряващи оптимални шансове за оцеляване, сред които оптимално време за осъществяване на репродуктивните функции. В условията на умерен климат те са развили механизъм за сезонно размножаване, за да постигнат настъпване на раждането през пролетта и ранното лято. При дребните преживни животни началото на репродуктивните функции настъпва в края на лятото и през есента, бременност протича през зимните месеци а раждането е през пролетта (Boden and Kennaway, 2006).

Според Goldman, (2003), при бре-

diurnal fluctuations of the factors of animate and inanimate nature determine the rhythm in the activity of various vital functions, including reproduction. Many mammals exhibit seasonal reproductive rhythms regulated by the photoperiod.

The length of the day in these animals is measured by the circadian system and the pineal gland (Goldman, 2003).

The rhythm of melatonin secretion is regulated by a neural pathway that includes circadian oscillations in the suprachismatic nucleus of the hypothalamus. In mammals, melatonin is secreted at night, which is inversely proportional to the length of the day and serves as a signal for a change in reproductive activity. Melatonin secretion varies with the length of the day and serves as an internal signal that regulates changes in behavior and physiology, thus ensuring seasonality in the manifestation of biological functions (Dax and Bentley, 2018). In this way, it has an exceptional influence on the process of evolution in the adaptation of animals to environmental conditions. The ultimate reproductive success is based on the creation of offspring, which is born at the most favorable time and grows during the time of maximum food availability.

Animals have developed numerous strategies that provide optimal chances of survival, including optimal time to perform reproductive functions.

In temperate climates, they have developed a mechanism for seasonal reproduction to achieve birth in spring and early summer.

In small ruminants, the onset of reproductive function occurs in late summer and autumn, pregnancy occurs in the winter and birth occurs in the spring (Boden and Kennaway, 2006).

According to Goldman, (2003), in

менните животни фетусът реагира на мелатониновия ритъм на майката, като преносът на фотопериодична информация от майката към фетуса е част от адаптивната система свързана с оцеляването на вида. Предполага се, че циркадиалните ритми подготвят фетуса за постнаталните събития като промените в температурите на средата през деня и през нощта. Ако е правилно информиран фетусът може да се подготви предварително да посрещне студен или топъл сезон при раждането. При сезонните животни като овцете, фотопериодичните сигнали получени до раждането определят интензивността на постнаталното развитие с оглед достигането на пубертет през оптималното време на годината (Goldman, 2003), като по този начин да не забременеят и да дадат потомство в неподходящо време на годината (Foster et al., 1988). Това показва, че фотопериодичния опит на фетуса играе съществена роля за определяне ендокринния статус на новороденото и времето на настъпване на овариалната активност при женските агнета (Helliwel et al., 1977). Много изследвания сочат, че, фотопериодичната информация може да оказва влияние и при определяне времето от денонощието, при което настъпва раждането, което може да има съществено значение за оцеляването на новороденото.

Продължителността на бременността, която е предопределена характеристика за всеки вид, завършва в точно определено време на деня. Обикновено дневните животни раждат през нощта, а нощните – през деня т.е. през периодите с понижена активност (Silver, 1990).

За да оцелее новороденото на първо място трябва да е достатъчно развито и жизнеспособно. Неговото съзряване се свързва с промени в хормоналния статус на майката и именно сигналите, които фетуса подава към майката за своето физиологично състояние, при преживните животни се

pregnant animals, the fetus responds to the mother's melatonin rhythm, and the transfer of photoperiodic information from the mother to the fetus is part of the adaptive system associated with the survival of the species. Circadian rhythms are thought to prepare the fetus for postnatal events such as changes in daytime and nighttime temperatures.

If properly informed, the fetus can prepare in advance to meet the cold or warm season at birth. In seasonal animals such as sheep, photoperiodic signals received before birth determine the intensity of postnatal development with a view to reaching puberty at the optimal time of year (Goldman, 2003), thus not becoming pregnant and producing offspring at inappropriate times of the year (Foster et al., 1988).

Thus, the photoperiodic experience of the fetus plays an essential role in determining the endocrine status of the newborn and the onset of ovarian activity in female lambs (Helliwel et al., 1977).

Many studies suggest that photoperiodic information may also be involved in determining the time of day at which birth occurs, which may be essential for the survival of the newborn.

The duration of pregnancy, which is a predetermined characteristic for each species, ends at a specific time of day. Usually diurnal animals give birth at night, and nocturnal - during the day, i.e. during periods of decreased activity (Silver, 1990).

In order for a newborn to survive in the first place, it must be sufficiently developed and viable. Its maturity is associated with changes in the hormonal status of the mother.

In ruminants, the fetus sends signals about its physiological state to the mother, which

смятат за началния сигнал за настъпване на раждането.

Промените във фотопериода могат да предизвикат промени във времето на раждане. Овцете раждат по-често през нощта (Lindahl, 1964). Според Liggins (2000) раждането при овцете не настъпва при отстраняване хипофизата на фетуса, а инфузията на кортизол или АКТХ към фетуса няколко седмици преди термина предизвиква раждане в течение на няколко дни. При козите, раждане преди термина може да се предизвика чрез интрафетален АКТХ или кортикостероиди. Това показва, че при преживните хипофизо-адреналната ос на фетуса играе доминантна роля за иницииране на предродилни хормонални промени в организма на майката. По същество нарастването на циркулиращия фетален кортизол стимулира плацентарния стероидогенезис и превръщането на прогестерона в естроген. Майката също играе роля за прецизиране времето на раждане и дори неговото иницииране при определени условия.

Много животни раждат през нощта или в определено време на денонощието. Известно е, че ако цикълът ден/нощ бъде нарушен близко до термина, животното може да „изчака" и да роди в подходящото време на следващия ден (Silver, 1990). Според Keverne, (1984) при повечето селскостопански животни болшинството раждания са вечер или рано сутрин. Ражданията при вида алпака зависят от слънчевата светлина и обикновено настъпват рано сутрин (Ñathanielsz, 1977). Sumar, (1985) също съобщава, че при южноамериканските камелиди (лама и алпака) раждането настъпва през деня, като честотата е значително по-висока в сутрешните, отколкото в следобедните часове. Повече от 90% от раждания на алпаки и лами се случват между 07.00 и 13.00 ч. Според автора тези видове са в състояние да отлагат (задържат) раждането при неблагоприятни условия на средата, като

is considered as the initial signal of birth.

Changes in the photoperiod can cause changes in the time of birth. Sheep give birth more often at night (Lindahl, 1964). According to Liggins (2000), birth in sheep does not occur when the fetal pituitary gland is removed, while infusion of cortisol or ACTH into the fetus a few weeks before term causes birth within a few days.

In goats, preterm birth can be induced by intrafetal infusion of ACTH or corticosteroids. This shows that in ruminants the pituitary-adrenal axis of the fetus plays a dominant role in initiating prenatal hormonal changes in the mother's organism. In essence, the increase in circulating fetal cortisol stimulates placental steroidogenesis and the conversion of progesterone to estrogen. The mother also plays a role in refining the time of birth and even initiating it under certain conditions.

Many animals give birth at night or at certain times of the 24-hour period. It is known that if the day/night cycle is disturbed close to the term, the animal can "wait" and give birth at the appropriate time the next day (Silver, 1990). According to Keverne, (1984) in most farm animals the majority of births are in the evening or early in the morning.

Births in alpaca species depends on sunlight and usually occur early in the morning (Ñathanielsz, 1977). Sumar, (1985) also reported that in South American camelids (llamas and alpacas) birth occurs during the day, with a significantly higher frequency in the morning than in the afternoon.

More than 90% of alpacas and llamas give birth between 07.00 and 13.00. According to the author, these species are able to delay (postpone) birth in adverse environmental conditions, preventing its

се предотвратява настъпването му при ниските нощни температури, характерни за техните местообитания. Те раждат през часовете на деня когато температурите са най-високи, тогава потомството вече е сухо, способно да стои на крака. Дори през различни сезони на годината и прилагането на схеми с различно съотношение тъмнина/светлина раждания при вида алпака показват сходен модел потвърждавайки съществуването на фотопериодичен контрол върху репродукцията (Knight, 1995). Установено е, че раждания при алпаките, и други преживни в Африка са тясно свързани и с настъпването на дъждовния сезон, и съответно, с оцеляването на вида (Davis et al., 1997).

Според Longo and Yellon, (1988) циркадиалия ритъм на мелатонинът при овцете е ясно изразен, той се подава към фетуса и това може би е начинът за сигнализиране към фетуса от страна на майката. Silver, (1990) смята че близостта на плацента, амниотична течност и новородено биха дали сигнал за започване на раждането при някои видове бозайници. Всеизвестно е, че при овцете и козите осиновяването на чуждите агнета и ярета става по-лесно ако те са напръскани с околоплодна течност.

Един от факторите които могат да забавят или отложат акта на раждане е стресът в каквато и да е форма. Симпатоадреналната активност и освобождаването на адреналин, води до отпускане на маточната мускулатура (Nathanielsz, 1985). Alexander et al. (1993) съобщават, че раждането при мериносови овце може да се задържи за кратък период от време при преместването на майките от един парцел в друг.

Установено е, че животните от различните видове раждат през различно време на денонощието. При домашните животни би могло да се повлияе върху репродукцията чрез методите на селекция и промяна на условията на отглеждане и хранене.

occurrence at low night temperatures, characteristic of their habitats.

They give birth during the hours of the day when the temperatures are highest, then the offspring are already dry, able to stand on their feet. Even during different seasons of the year and the application of schemes with different darkness/light ratios, births in the alpaca species show a similar pattern, confirming the existence of photoperiodic control over reproduction (Knight, 1995). Births in alpacas and other ruminants in Africa have been found to be closely linked to both the onset of the rainy season and, consequently, the survival of the species (Davis et al., 1997).

According to Longo and Yellon, (1988) the circadian rhythm of melatonin in sheep is clearly expressed, it is delivered to the fetus and this may be the way the mother signals to the fetus. Silver, (1990) believed that the proximity of the placenta, amniotic fluid, and the newborn would signal the onset of labour in some mammalian species. It is well known that in sheep and goats the adoption of another's lambs and kids becomes easier if they are sprayed with amniotic fluid.

Any form of stress is one of the factors that can delay or postpone the birth. Sympathoadrenal activity and the release of adrenaline lead to relaxation of the uterine muscles (Nathanielsz, 1985).

Alexander et al. (1993) reported that births in merino sheep could be delayed for a short period of time when mothers moved from one plot to another.

It has been established that animals of different species give birth at different times of the day. In domestic animals, birth could be influenced by methods of selection and modification of breeding and feeding conditions.

Инициирането на раждането при овцете е свързано с координирани хормонални сигнали, генерирани от централната нервна система на фетуса, модифициращи плацентарния стероидогенезис, докато при козите, поддържането на бременността зависи от непрекъснатото функциониране на жълтото тяло (Thornburn et al., 1977; Bazer and First., 1983).

При овцете през първите 50 дни на бременността източникът на прогестерон е жълтото тяло, а след това лутеалния прогестерон постепенно намалява и бременността се подържа от плацентарния прогестерон. След 90ия ден нивата на прогестерона рязко нарастват достигайки максимум към 125 - 130ия ден. Следва понижение предизвикано от нарастването на феталните кортикостероиди в плазмата, които повлияват плацентарната стероидогенеза (Thornburn et al., 1977; Al-Gubory et al., 1999).

Thornburn et al., (1977) обобщава че при козите жълтото тяло е основното място за производство на прогестерон и оваректомията на всеки етап от бременността води до аборт. Регресията на жълтото тяло и понижаването на плазмените нива на прогестерона предшества еволюцията на маточната активност и нормалното раждане. Към 60 - 70ия ден от бременността плазмените концентрации на прогестерон нарастват до 4,5-5,5 ng/ml и остават на това ниво до няколко дни при раждането, но дори в деня на раждането е все още достатъчно високо – 1,25 ng/ml. През бременността плацентата също продуцира прогестерон, но количествата са недостатъчни за поддържането на бременността. Промяната в съотношението естроген – прогестерон повишава секрецията на окситоцин.

Окситоцинът е крайният хормон в майчината каскада и се секретира в незначителни количества до започването на втората фаза на раждането, тъй като сигналът към хипофизата е

Birth initiation in sheep is associated with coordinated hormonal signals generated by the central nervous system of the fetus, modifying placental steroidogenesis, while in goats, the maintenance of pregnancy depends on the continuous functioning of the corpus luteum (Thornburn et al., 1977; Bazer and First., 1983).

In sheep, during the first 50 days of pregnancy, the source of progesterone is the corpus luteum, then luteal progesterone gradually decreases and the pregnancy is maintained by placental progesterone. After the 90th day, progesterone levels rise sharply, reaching a maximum by the 125th - 130th day. This is followed by a decrease caused by the increase in fetal plasma corticosteroids, which affect placental steroidogenesis (Thornburn et al., 1977; Al-Gubory et al., 1999).

Thornburn et al., (1977) summarizes that in goats, the corpus luteum is the main source for progesterone production and oophorectomy at any stage of pregnancy leads to abortion. The regression of corpus luteum and the decrease in plasma progesterone levels precede the evolution of uterine activity and normal birth. By the 60th - 70th day of pregnancy, plasma progesterone concentrations increase to 4.5-5.5 ng ml and remain at this level for several days at birth, but even on the day of birth it is still high enough - 1.25 ng / ml. The placenta also produces progesterone during pregnancy, but the amounts are insufficient to maintain the pregnancy. The change in the estrogen-progesterone ratio increases the secretion of oxytocin.

Oxytocin is the terminal hormone in the maternal cascade and is secreted in small amounts until the onset of the second phase of labour, as the signal to the pituitary gland is a consequence of

следствие от разтягането на цервикса и вагината (Silver, 1990).). Може да се каже, че простагландините са крайният импулс който задейства маточната мускулатура.

Проучванията върху часовата динамика на ражданията при овце започват още през 60-те години на миналия век. George, (1969) съобщава за достоверна разлика в часовото разпределение на оагванията при овце от породите Дорсет хорн и Мерино. В периода между 8 и 18 ч. при овцете от породата Дорсет хорн са регистрирани достоверно повече раждания, в сравнение с наблюдаваните при породата Мерино. Установено е, че този модел не се променя през годините, като при зимно агнене 62% от овцете Дорсет и 37% от майките Мерино и са се оагнили през деня в периода между 8 и 18 ч., а при пролетното агнене през посочения период от деня са родили съответно 23 и 39% от майките. Не е установен ефект на поредността на бременността на майките върху часовата динамика на ражданията. Kaulsuff, (2002) наблюдава часовото разпределение на оагванията при Германско месодайно мерино, Германска месодайна черноглава порода и техни кръстоски с породата Бурула, отлеждани в помещения с ограничено осветление през нощта. Овцете от всички генотипи са раждали най-често между 9 ч. Сутринта и 3 ч. след обед. В течение на деня са се оагнили 12-26% повече овце отколкото през останалите 12 ч. на денонощието. Подобно разпределение на честотата на оагванията са установени и при овце от породата Ил де Франс със синхронизиран еструс, оагнени през месец октомври (Hristova et al., 2010). В периода от 8 до 20 ч. са родили 57,1% от овцете, като пикът на оагванията е между 16 и 20 ч. Броят на износваните фетуси не оказва ефект върху часовата динамика на ражданията.

Lindahl, (1964) проучва часовото разпределение на оагванията при овце

stretching of the cervix and vagina (Silver, 1990). It can be said that prostaglandins are the final impulse that activates the uterine muscles.

Studies on the hourly dynamics of births in sheep began in the 1960s. George, (1969) reported a significant difference in the time distribution of lambing in Dorset Horn and Merino sheep

Between 8 a.m. and 6 p.m., significantly more births were registered in Dorset Horn sheep than in Merino.

It was found that this pattern has not been changed over the years, as in winter lambing 62% of Dorset sheep and 37% of Merino mothers lambed during the day between 8 a.m. and 6 p.m., and in spring lambing during the specified period of 23 and 39% of mothers gave birth on the same day.

No effect of the sequence of pregnancies on the hourly dynamics of births has been established. Kaulsuff, (2002) observed the time distribution of lambing in German meat merino, German black-headed mutton breed, and their crosses with Burula breed, raised in premises with limited lighting at night.

Sheep of all genotypes gave birth most often between 9 a.m. and 3 p.m. During the day, 12-26% more sheep lambed than during the remaining 12 hours of the 24-hour period. A similar distribution of the frequency of lambing was found in sheep of Ile de France with synchronized estrus, lambed in October (Hristova et al., 2010).

In the period from 8 a.m. to 8 p.m. 57.1% of the sheep gave birth, and the peak of lambing was between 4 p.m. and 8 p.m. The number of fetuses, which were borne till the beginning of lambing, has no effect on the hourly dynamics of births.

Lindahl, (1964) studied the time distribution of lambing in sheep of

от породите Хемпшир, Шропшир, Саутдаун, Мерино, Тарги, Дорсет и техни кръстоски. Майките са отглеждани оборно и хранени 2 пъти дневно – в 8 и 14 ч., като светлината в помещението е изключвана в 20 ч. През петте години на експеримента при всички породи, независимо от възрастта на майките, е наблюдаван сходен модел на часовото разпределение на оагванията, като пиковете в честотата на ражданията са в ранните нощни часове и късния следобед, а най-ниска честота е регистрирана в часовете до обяд. Не е установен ефект на породата върху часовата динамика на оагванията. Възможно е настъпването на раждането да се дължи на нивото на физичната и метаболитната активност на овцете. Ако това е така то би следвало пикът да настъпи след храненето, а затишието да настъпи по времето на минималната активност. Резултатите показват, че активността на овцете след храненето оказва определено влияние върху настъпването на раждането.

Други автори (Sharafeldin et al., 1971; Aoki et al., 2006) също считат, че часовата динамика на ражданията при преживните може да се повлияе от времето на хранене и свързаните с това промени във физичната и метаболитна активност на животните. Jaeger et al., (2008) констатират, че при месодайни крави, хранени в периода между 16 и 18 ч. ражданията през дневните часове са достоверно повече, в сравнение с регистрираните през нощта – само 14,6% раждат в периода между 18 и 6 часа. При кравите хранени сутрин между 6 и 8 ч. ражданията са случайно разпределени в течение на денонощието. Aoki et al. (2006) също съобщават, че времето на хранене и типът на дажбата могат да окажат влияние върху часовата динамика на отелванията. При кравите хранени в 18 ч. с дажба основана на груби фуражи, честотата на ражданията през деня е достоверно по-висока, в сравнение с регистрирана-

Hampshire, Shropshire, Southdown, Merino, Targi, Dorset breeds and their crosses. The mothers were raised in a stable and fed twice a day - at 8 a.m. and 2 p.m., and the light in the room was turned off at 8 p.m.

During the five experimental years in all breeds, regardless of the age of the mothers, a similar pattern of hourly distribution of lambing was observed, with peaks in the frequency of births in the early night hours and late afternoon, and the lowest frequency was recorded in the hours up to noon. No effect of the breed on the hourly dynamics of lambing has been established. It is possible that the onset of birth is due to the level of physical and metabolic activity of sheep.

If this is the case, it should peak after a meal and the lull should occur during the minimum activity. The results show that the activity of sheep after feeding has a certain influence on the onset of birth.

Other authors (Sharafeldin et al., 1971; Aoki et al., 2006) also believe that the hourly dynamics of births in ruminants may be influenced by feeding time and related changes in the physical and metabolic activity of animals.

Jaeger et al., (2008) found that in beef cattle fed between 4 p.m. and 6 p.m., births during the day were significantly higher than those registered at night - only 14.6% gave birth between 6 p.m. and 6 a.m. In cows fed between 6 and 8 a.m. in the morning, births were randomly distributed throughout the day.

Aoki et al. (2006) also reported that feeding time and ration type may affect the hourly dynamics of calving.

For cows fed at 6 p.m. with a ration based on roughage, the frequency of births during the day was significantly higher than for cows fed at the same time with a

та при кравите хранени по същото време с висококонцентратна дажба – съответно 79,2% и 38,5%. Cobb and Gonyou, (1982) проучва зависимостта между времето на хранене и часовото разпределение на оагванията при овце от породите Хемпшир, Суфолк и Рамбуйе, сравнявайки 3 режима на залагане на фуража – в 8, 16 и 24 ч. Еднократното хранене в 12 ч. допринася за повишаване честотата на оагванията през дневните часове, като в периода между 6 и 18 ч. са родили 69,6% от майките. В същото време при този режим на хранене се редуцира броят на ражданията през нощта, като в периода между 22 и 6 ч. са се оагнили 15,2% от овцете. Резултатите показват че времето на хранене може да модифицира часовото разпределение на ражданията при крави и овце, което вероятно е свързано с промените в ендокринния статус на фетуса и майката при различните режими на хранене (Simonetta et al., 1991).

Часовата динамика на ражданията при козите се различава съществено от наблюдаваната при крави и овце. При едно от ранните проучвания, продължило 12 години (Bosc et al., 1988) са наблюдавани кози от алпийската порода и нейни кръстоски с породите Саанска и Пойтевин. Животните са държани на открито в условията на естествените светлинни стимули и хранени два пъти дневно – между 7 и 9 ч. и 18-19 ч. Раждането е през месеците февруари и март. През 12–те години на опита е наблюдавана сходна часова динамика на окозванията. Честотата на ражданията е концентрирана в средата на деня – между 11 и 15 часа, като в периода между 6 и 20 ч. са се окозили 90,6% от майките. Подобни на тях са и резултатите от наше изследване в което Aleksiev et al., (2013) проучват разпределението на ражданията на кози от породата Българска бяла млечна от различна възраст и установяват че по-голяма част от ражданията са

high-concentration ration - 79.2% and 38.5%, respectively.

Cobb and Gonyou, (1982) studied the relationship between feeding time and hourly distribution of lambing in sheep of Hampshire, Suffolk and Rambouillet breeds, comparing 3 feeding regimes - at 8 a.m., 4 p.m. and 12 a.m. A single meal at 12 p.m. contributes to an increase in the frequency of lambing during the day, with 69.6% of mothers giving birth between 6 a.m. and 6 p.m.

At the same time, this diet reduces the number of births at night, with 15.2% of sheep lambing between 10 p.m. and 6 a.m. The results show that feeding time may modify the time distribution of births in cows and sheep, which is probably related to changes in the endocrine status of the fetus and mother at different diets (Simonetta et al., 1991). T

The hourly dynamics of births in goats differs significantly from those observed in cows and sheep. In one of the early studies, which continued 12 years (Bosc et al., 1988), goats of the alpine breed and its crosses with Saanska and Poitevin breeds were observed.

The animals were kept outdoors in the conditions of natural light stimuli and fed twice a day - between 7 and 9 a.m. and 6 and 7 p.m. The birth was in the months of February and March. During the 12 experimental years, a similar temporal dynamics of birth in goats was observed.

The frequency of births was concentrated in the middle of the day - between 11 a.m. and 3 p.m., as 90.6% of mothers gave birth in the period between 6 a.m. and 8 p.m. Similar are the results of our study in which Aleksiev et al., (2013) studied the distribution of births of goats of Bulgarian White dairy of different ages and found that most births occurred between 6.00 a.m. and 8 p.m. as the peak was between

настъпили в периода между 6,00 и 20,00ч. като пикът е бил между 14,00 и 16,00ч.

Резултатите показват, че козите могат бъдат причислени към видовете животни, раждащи в определено време от денонощието, което предполага прецизна регулация на механизмите свързани с настъпването на раждането. Тези механизми са сходни при кравите, овцете и козите, но часовата динамика на раждания при тези видове е различна.

Установяването на часовото разпределение на раждания в течение на денонощието при селскостопанските животни, особено при интензивните системи на отглеждане, е предпоставка за оптимизиране графика за обслужване и наблюдение на животните, планирането на потребностите от работна сила и ефективното и използване в течение на кампанията (Alexiev, 2011).

2 and 4 p.m.

The results show that goats can be classified as species giving birth at a certain time of day, which implies precise regulation of the mechanisms associated with the onset of birth. These mechanisms are similar in cows, sheep and goats, but the time dynamics of births in these species are different.

Establishing the hourly distribution of births during the day for farm animals, especially in intensive breeding systems, is a prerequisite for optimizing the schedule for service and monitoring of animals, planning the needs of the workforce and its effective use during the campaign (Alexiev, 2011).

ИЗВОДИ

В заключение можем да обобщим, че познаване на механанизмите на работа на циркадиалния часовник, секрецията на мелатонин и динамиката на биологичните ритми водят до бърз напредък в разшифроването на протичащите биологични процеси и регулаторни механизми в организма на животните. Те могат да послужат като основа на биотехнологиите за интензифициране на репродуктивните процеси както и по-добро управление на фермата.

CONCLUSIONS

In conclusion, it can be summarized that knowledge of the mechanisms of the circadian clock, melatonin secretion and the dynamics of biological rhythms lead to rapid progress in deciphering the ongoing biological processes and regulatory mechanisms in animals. They can serve as a basis for biotechnology to intensify reproductive processes as well as better farm management.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Aoki, M., K. Kimura and O. Suzuki**, 2006. Influence of Feeding Regime on Timing of Parturition in Beef Cattle and the Relationship of Vaginal Temperature to Parturition. *Animal Science Journal*, 77, 290-299.
2. **Aleksiev, Y., S. Stoycheva, P. Zunev, Ts. Hristova, Ts. Maslev and G. Dimov**, 2013. The Effect of Parity on Parturition Pattern in Bulgarian White Dairy Goats. In: Proceedings of the 10th International Symposium Modern trends in livestock production. Belgrade, Republic of Serbia, pp. 979-985.
3. **Aleksiev, Y.**, 2011. Time of Parturition in Toggenburg and Anglonubian Goats. *Agricultural Science*, 44(4), 68-72 (Bg).
4. **Alexander, G., D. Stevens, P. Baker and R. Bradley**, 1993. The Timing of Birth in Grazing Merino Sheep. *Australian Journal of Experimental Ariculture*, 33, 557-560.

5. **Al-Gubory, K. H., A. Solari and B. Mirman**, 1999. Effects of Luteectomy on the Maintenance of Pregnancy, Circulating Progesterone Concentrations and Lambing Performance in Sheep. *Reproduction, Fertility and Development*, 11, 317-322.
6. **Bazer, F. and N. First**, 1983. Pregnancy and Parturition. *Journal of Animal Science*, 57, Suppl 2, 425-460.
7. **Banerjee, D. and A. Dandapat**, 2010. Circadian Rhythm – A Review. *Vetscan*, 5, 2, Art. 60.
8. **Boden, M. and D. Kennaway**, 2006. Circadian Rhythms and Reproduction. *Reproduction*, 132 379-392.
9. **Bosc, M., P. Guillimin, G. Bourgy and P. Pignon**, 1988. Hourly Distribution of Time of Parturition in the Domestic Goat. *Theriogenology*, 30, 23-33.
10. **Cobb, A. and H. Gonyou**, 1982. The Effect of Time of Feeding on Time of Lambing. *Sheep Research*, Expo-82, DSAC, University of Illinois, 8-10.
11. **Dax, Vivid and G. E. Bentley**, 2018. Seasonal Reproduction in Vertebrates: Melatonin Synthesis, Binding, and Functionality Using Tinbergen's Four Questions. *Molecules*, 23, 652.
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. *Animal Reproduction Science*, 46, 297-303.
13. **Dunlap, J.C., J.J. Loros and P.J. DeCoursey**, 2004. Fundamental Properties of Circadian Rhythms. In: Chronobiology – Biological Timekeeping, Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, MA, 67.
14. **Foster, DL, F.J. Ebling and L.E. Claypool**, 1988. Timing of Puberty by Photoperiod. *Reproduction Nutrition and Development*, 28, 349-364.
15. **Goldman, B.**, 2003. Pattern of Melatonin Secretion Mediates Transfer of Photoperiod Information from Mother to Fetus in Mammals. *Science STKE*, 192, 29.
16. **George, J.**, 1969. Variation of the Time of Parturition of Merino and Dorset Horn Ewes. *Journal Agriculture Science*, 73, 295-299.
17. **Helliwel, R., J. Walace, R. Aitken, P. Racey and J. Robinson**, 1977. The Effect of Prenatal Photoperiodic History on the Postnatal Endocrine Status of Female lambs. *Animal Reproduction Science*, 47, 303-31.
18. **Hristova, Ts., Y. Aleksiev and S. Stoicheva**, 2010. Temporal Distribution of Birth in Ile de France Ewes after Estrus Synchronization. *Journal Mountain Agriculture on the Balkans*, 13(4), 871-879.
19. **Hirota, T. and Y. Fukada**, 2004. Resetting Mechanism of Central and Peripheral Circadian Clocks in Mammals. *Zoological Science*, 21, 359-368.
20. **Jaeger, J., K. Pas, T. Olson, T. Delcurto and A. Qus**. 2008, Case Study: Pattern of Parturition as Affected by Time of Feeding and Prediction of the Time of Day That Parturition Will Occur in Spring-calving Beef Cows. *The Professional Animal Scientist*, 24, 247-253.
21. **Kaulsuff, K.**, 2002. Duration of Pregnancy and Diurnal Distribution of Lambing in Sheep with Different Genotypes. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 109, 3-7.
22. **Keverne, E.B.**, 1984. Reproductive Behaviour. In: Reproduction in Mammals 4, Reproductive Fitness, ed. Austin C., Short, R., Cambridge University Press, Cambridge, pp. 133-175.
23. **Knight, T., A. Death and T. Weith**, 1995. Photoperiodic Control of the the Time of Parturition in Alpacas (Lama pacos). *Animal Reproduction Science*, 39, 259-265.

24. **Longo, L.D., S.M. Yellon**, 1988. Biological Timekeeping during Pregnancy and the Role of Circadian Rhythms in Parturition. In: The Endocrine Control of the Fetus, ed. Konzel, W., Jensen, A., pp. 173-192. Springer Verlag, Heidelber.
25. **Liggins, G.C.**, 2000. The Role of the Hypothalamic-pituitary-adrenal Axis in Preparing the Fetus for Birth. *American Journal of Obstetriks and Gynecology*, 182(2), 475-477.
26. **Lindahl, I.**, 1964. Time of Parturition in Ewes. *Animal Behaviour*, 12, 231-234.
27. **Nathanielsz, P.**, 1977. In The Fetus and Birth, Ciba Foundation Symposium 47, ed. Knight, J. and O'Connor, M., pp. 151-153. Elsevier/North Holland, New York.
28. **Piccione, G. and G. Caola**, 2002. Biological Rhythm in Livestock. *Journal of Veterinary Science*, 3, 145-157.
29. **Reinberg, A.**, 2003. Concepts in Human Biological Rhythms. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 5, 327-342.
30. **Sharafeldin, M., M. Racab and A. Kandeel**, 1971. Behavior of Ewes during Parturition. J*ounal of Agriculture Science*, 76, 419-422.
31. **Seron-Ferre, M., Ch. Ducsay and G. Valenzuela**, 1993. Circadian Rhythms during Pregnancy. *Endocrine Reviews*, 14(5), 594-609.
32. **Silver, M.**, 1990. Prenatal Maturation, the Timing of Birth and How it May Be Regulated in Domestic animals*. Exp Physiol*, 75, 285-307.
33. **Simonetta, G., D. Walker and I. McMillen**, 1991. Effect of Feeding on Diurnal Rhythm of Plasma Cortisol and Adreenocorticotropic Hormone Concentrations in the Pregnant Ewe and Sheep Fetus. *Experimental Physiology*, 76, 219-229.
34. **Sumar, J.**, 1985. Reproductive Physiology in South American Camelids. In: Genetics of Reproduction in Sheep Eds RB Land and DW Robinson. Butterworths, London.
35. **Thornbun, G., J. Challis and W. Currie**, 1977. Control of Parturition in Domestic Animals. *Biology of Reproduction*, 16, 18-27.
36. **Vitaterna, M. H., J. S. Takahashi and F. W Turek**, 2001. Overview of Circadian Rhythms. *Alcohol Research & Health*, 25(2), 85-93.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2020, 23 (1), 47-55
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Синхронизиране на еструс чрез 5-дневно прогестагеново третиране със или без СЖК при овце на 12 месечна възраст от породата Лакон

Никола Методиев

Институт по животновъдни науки, 2232 Костинброд, България

Synchronization of Estrus through 5 days Progestagen Treatment Plus or without PMSG at 12 Months Aged Lacaune Ewes

Nikola Metodiev

Institute of Animal Science, 2232 Kostinbrod, Bulgaria
E-mail: n_metodiev@abv.bg

Original scientific paper

РЕЗЮМЕ

Целта на настоящото проучване е да се индуцира синхронен еструс чрез 5-дневно прогестагеново третиране с или без СЖК при овце на 12 месечна възраст от породата Лакон. Опитът е проведен с 27 овце през месец ноември, 2019. На всички животни бяха поставени вагинални тампони, които престояха 5 дни. В момента на поставяне на тампоните овцете са инжектирани със синтетичен аналог на PGF2α. Две опитни групи бяха сформирани в зависимост от това, дали са третирани със СЖК: Група 1 (n = 14) - в момента на махане на тампона на животните бе инжектирано СЖК в доза 300 UI PMSG; Група 2 (n = 13) – без третиране. Степента на синхронизация на еструс при Група 1 бе 92,86% и се различваше достоверно (P<0,05) с Група 2 - 53,8%. Заплодяемостта при Група 1 е 76,92% и достоверно по-висока спрямо тази на Група 2 - 0%. Плодовитостта на Група 1 бе 130,0%.

Ключови думи: овце, еструс, краткотрайни, прогестагени, СЖК

SUMMARY

The aim of the present study was to induce synchronized estrus through 5 days progestagen treatment plus or without PMSG 12 months aged Lacaune ewes. The experiment was carrired out with 27 Lacaune ewes during November, 2019. The intravaginal sponges were put to all experimental animals for 5 days. At the time of the placement of the sponges, the ewes were treated with a synthetic analogue of PGF 2α. Two experimental groups were formed depending on whether a PMSG was used or not: Group 1 (n = 14) - at the time of the sponge removal, 300 UI PMSG was injected; Group 2 (n = 13) - no PMSG treatment. Estrus synchronization rate was higher and significant at Group 1 – 92,86% (P<0,05) compared to Group 2 – 53,85. Fertility for Group 1 was 76,92% and its values was significantly different from values of Group 2 – 0%. Fecundity for Group 1 was 130,0%.

Key words: sheep, estrus, short term, progestagens, PMSG

УВОД

В България овцете обикновено се запложда за първи път при навършване на 18 месечна възраст. Това е така поради традиционно екстензивния начин на отглеждане и породният състав (аборигенни овце, тънкорунни и полутънкорунни овце). През последните 30 години броят на овцете намалява рязко (според ФАО през 1990 е имало 8130 000 живи животни докато за 2018 броят на овцете е бил 1316000), както се промени и породният състав на отглежданите овце (над 70% от животните са от породи млечно направление). Наблюдава се засилен интерес и внос на елитни животни от специализираните породи за мляко Лакон, Аваси и Асаф. Към този момент, в България има 40 чистопородни ферми и над 15000 чистопородни животни от породата Лакон.

Оптимизирането на методите за управление с цел подобряване на производствения и репродуктивен потенциал на специализирана млечна порода като Лакон при интензивни условия може да бъде изключително важно за производителите на мляко по света (Hernandez et al., 2011). По-ранно заплождане (до 12 месечна възраст), както и синхронизране на еструса и заплождането са ефективни методи за оптимизиране на отглеждането на овцете при интензивни условия. Всеки един допълнителен ден до включване на животните в основното стадо е свързан с осъществяването на определени разходи, които повишават себестойността на продукцията и удължават критичния път до получаване на първите приходи (Harizanova, 2008).

В Европа, най-разпространеният хормонален метод за синхронизация на еструса при дребните преживни е чрез използването на (интра) вагинални тампони (гъби), импрегнирани със синтетични прогестагени (FGA или MGA) (Menchaca and Rubianes, 2004; Abecia

INTRODUCTION

In Bulgaria, sheep are usually fertilized for the first time at the age of 18 months. This is because of the traditionally extensive breeding system and breed composition (autochthonous, fine wool and semi-fine wool breeds).

Over the last 30 years, the number of sheep has fallen sharply (according to FAO the number of live animals was 8,130 millions in 1990 vs 1,316 million in 2018), as well as the breed composition of the raised sheep has changed(over 70% of live animals for milk production). There is a growing interest and import of elite animals from the specialized dairy breeds like Lacaune, Awasi and Asaff. Up to now, in Bulgaria there are 40 purebred Lacaune farms with more than 15 000 heads.

Optimizing management procedures to improve the productive and reproductive potential of a selective dairy breed like Lacaune under intensive conditions may be extremely important for milk producers over the world (Hernandez et al., 2011).

Early fertilization (before 18 months of age), as well as oestrus synchronization are effective methods for optimizing sheep rearing under intensive conditions.

Each additional day before the animals are included in the main flock is associated with the implementation of certain costs, which increase the cost of production and extend the critical path till earning the first income (Harizanova, 2008).

In Europe, the most common hormonal method for estrus synchronization (ES) of small ruminants is with intravaginal sponges, impregnated with synthetic progestagen (Menchaca & Rubianes, 2004; Abecia et al., 2011).

et al., 2011). Различни схеми за синхронизация на еструса според продължителността на престоя на тампоните във влагалището се прилагат: при дълги или традиционни третирания (престой от 12 до 14 дни) или кратки престой от 5 до 7 дни (краткосрочни лечения). При всички схеми на синхронизация с прогестагени, след премахването им се поставя СЖК за индуциране на овулация. Понастоящем в европейските страни има засилено активно движение срещу използването на СЖК и е необходимо да се търсят алтернативни протоколи за индуциране на овулацията, които да не включват СЖК (Maritnez-Ros et al., 2019a).

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.

Different protocols for ES with intravaginal sponges were used, according to the duration of sponge stay in the vagina: 12 to 14 days (so-called long term or traditional treatments) or 5-7 days (short-term treatments).

All protocols for ES that used progestagens ends with PMSG treatment.

Currently, there is a highly active movement in European countries against the use of eCG and it is necessary to look for alternative protocols for the induction and ovulation which would not include eCG (Maritnez-Ros et al., 2019a).

The aim of the present study was to induce synchronized estrus through 5 days progestagen treatment plus or without PMSG at 12 months aged Lacaune ewes.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Опитът е проведен през месец ноември, 2019, с 27 овце от породата Лакон на 12 месечна възраст.Овцете се отглеждаха оборно, в частна ферма, намираща се в с. Завала, общ. Брезник, на 1000 метра надморска височина. По време на експеримента овцете бяха хранени със следната дажба (на глава/ на ден): - люцерново сено – 0,8 kg и концетратна смеска (с 17 % СП) - 0,5 kg.

Опитните животни бяха клинично здрави, изравнени по жива маса (40 ±2 kg) и телесно състояние (ОТС - 2,5-3,0). На всички животни бяха поставени вагинални тампони (30 mg FGA Synchropart®, Ceva Sante Animale, France), които престояха 5 дни. В момента на поставяне на тампоните овцете са инжектирани със синтетичен аналог на PGF2α (1,0 ml Alfabedyl® Ceva Sante Animale, France). Две опитни групи бяха сформирани в зависимост от това, дали са третирани със СЖК.

Група 1 (n = 14) - в момента на махане на тампона на животните бе

MATERIAL AND METHODS

The experiment was carrired out during November, 2019, with 27 Lacaune ewes, aged 12 months. The ewes were raised indoors, in private farm, situated in village Zavala, 1000 m altitude, Breznik municipality. During the time of the experiment, ewes were fed with next ratio (per head per day): alfalfa hay - 0,8 kg and concentrate mix (17% crude protein) - 0,5 kg.

The experimental animals were clinically healthy, equal in live weight (40 ± 2 kg) and body condition (BCS - 2.5-3.0). To all animals were put vaginal sponges (30 mg FGA Synchropart®, Ceva Sante Animale, France) for 5 days.

At the time of the placement of the sponges, the ewes were treated with a synthetic analogue of PGF 2α (1,0 ml Alfabedyl® Ceva Sante Animale, France). Two experimental groups were formed depending on whether a PMSG was used or not.

Group 1 (n = 14) - at the time of the sponge removal, 300 UI PMSG

инжектирано СЖК в доза 300 UI PMSG (Synchropart® PMSG, Ceva Sante Animale, France).

Група 2 (n = 13) – без третиране.

На 48-ия час след махане на тампоните овцете бяха изследвани за наличие на еструс чрез еструс-детектор ((Draminski Ltd). Овце с електрическо съпротивление ≤ 350 единици (съгласно инструкциите на фирмата производител и предходни наши опити) се приеха, че са в еструс. Между 50-ия и 51-ия час от махането на тампоните овцете в еструс бяха еднократно изкуствено осеменени дълбоко вагинално, с разредена сперма (използван бе глюкозо-цитратен разредител 6 А в съотношение 1:3) в доза 0,4-0,5 ml. Кочовете се отглеждаха в същата сграда, на срещуположния край, като те нямаха пряк визуален или друг контакт, а само обонятелен. Използвани бяха еякулати от три коча, получени по метода на изкуствената вагина и бяха със следните параметри: обем ≥ 1,0 ml и подвижност ≥ 70%.

Бяха проследени следните показатели:

- Синхронност в проявата на еструса (степен на синхронизазия на еструса – ССЕ) на 48-ия час след махане на тампоните - брой овце в еструс/общ брой овце х 100.
- Заплодяемост (по оагванията) – родили овце/ осеменени овце х 100.
- Биологичната плодовитост - абортирани, живородени и мъртвородени агнета/ оагнените овце х 100.

Заплодяемостта и биологична плодовитост бяха отчетени след приключване на агнилната кампания. Резултатите са представени в брой овце или агнета (n) и в проценти (%) за всеки изследван показател. Достоверността на разликите на показателите синхроност в проявата на еструс и заполяемост на двете опитни групи бе установен чрез Fisher's exact test (http://graphpad.com/quickcalcs/contingency1/)

(Synchropart® PMSG, Ceva Sante Animale, France) was injected i.m.

Group 2 (n = 13) - no PMSG treatment.

At 48 h after sponge removal the ewes were tested for presence of a heat with an estrous detector (Draminski Ltd). All ewes that had electrical resistance of vaginal mucus ≤ 350 units were considered to be in estrus (according to users' manual and our field observations). Between the 50th and 51th hours after removal of the sponges, the ewes in the estrus were inseminated once, artificially (AI), deeply vaginal, with diluted semen (with citrate-glucose extender 6A in ratio 1:3) with a dose 0,4-0,5 ml.

The rams were raised in the same building on the opposite side and animals didn't have any visual or service contact, only olfactory.

The ejaculates were obtained from 3 rams by artificial vagina and parameters of all were: volume ≥ 1,0 ml and sperm motility ≥ 70%.

The following parameters were studied:

- Estrus synchronization rate (ESR) – ewes in estrus on 48 h after sponge removal/ all ewes x 100.
- Fertility – lambed ewes/ inseminated ewes x 100.
- Fecundity - the number of born lambs (included all born lambs – live, dead and aborted) / lambed ewes x 100.

Fertility and fecundity were calculated after lambing. Results were presented in number (n) and percentage (%).

The significance of the differences between groups about the ESR and fertility were established by the Fisher's exact test (http://graphpad.com/quickcalcs/contingency1/).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Степента на синхронизация на еструс при Група 1 бе 92,86% и достоверно по-висока (P <0,05) спрямо степента на синхронизация при Група 2 - 53,8% (Таблица 1). Заплодяемостта при Група 1 бе 76,92% и достоверно по-висока спрямо тази на Група 2 - 0% (нито една от седемте овце в еструс не бе се заплодила след изкуственото осеменяване (Таблица 1.) Плодовитостта на Група 1 бе 130,0%.

RESULTS AND DISCUSSION

Estrus synchronization rate was higher at Group 1 – 92,86% and its value was significantly different (P < 0,05) from value of Group 2 – 53,85% (Table 1).

Fertility for Group 1 was 76,92% and its value was significantly different from value of Group 2 – 0% (neither of seven ewes in estrus was pregnant after AI) (Table 1.) Fecundity for Group 1 was 130,0%.

Таблица 1. Степен на синхронизация на еструса, заплодяемост и плодовитост на опитните групи
Table 1. Estrus synchronization rate (ESR), fertility and fecundity of the ewes from the experimental groups

Група Group	CCE / ESR		Заплодяемост / Fertility		Плодовитост / Fecundity	
	n (ewes)	%	n (ewes)	%	n (lambs)	%
Група1 Group 1 n = 14	13	92.86*	10	76.92**	13	130.0
Група 2 Group 2 n = 13	7	53.85	0	0.0		

Забележка: *Достоверност на разликата при P < 0,05; **Достоверност на разликата при P< 0,01
Note: *Significant difference at P < 0,05; **Significant difference at P< 0,01

Получените резултати за CCE и заплодяемостта при Група 1 са в съответствие с резултатите получени в предходни наши изследвания с кратки прогестагенови третирания (5-7 дневни) (Metodiev and Raicheva, 2011; Metodiev et al., 2018 както и с тези, съобщени от други автори Karaca et al., 2009; Martemucci and D'Alessandro, 2011; Maritnez-Ros and Gonzalez-Bulnes, 2019; Maritnez-Ros et al., 2019a; Maritnez-Ros et al., 2019b) от 80,0 % до 100% CCE до 144 час след махане на тампоните и заплодяемост между 60-90%.

Идеята на настоящия експеримент дойде от предходен наш експеримент, който бе проведен през май 2019 г. (резултатите са в процес на публикуване). В този експеримент индуцирахме синхронен еструс чрез 5-дневно прогестагеново третиране със или без СЖК. Експериментът бе проведен с 26 раждали овце, като бяха сформирани

The obtained results for ESR and fertility in Group 1 was consistent with the results obtained in our previous experiments with short term (5-7 days) progestagen treatments (Metodiev and Raicheva, 2011; Metodiev et al., 2018) and also to these, reported by other authors (Karaca et al., 2009; Martemucci and D'Alessandro, 2011; Maritnez-Ros and Gonzalez-Bulnes, 2019; Maritnez-Ros et al., 2019a; Maritnez-Ros et al., 2019b) - from 80,0 to 100% ESR until 144 hours after sponge removal and fertility between 60-90%.

The idea of the present experiment came through a previous experiment that we conduct during May, 2019 (results in process of publishing). In that experiment we induced synchronized estrus through 5 days progestagen treatment plus or without PMSG. The experiment was carrired out with 26 multiparous ewes, as three experimental groups were formed

три опитни групи в зависимост от това дали се използва СЖК или не, както и от времето на третиране със синтетичен аналог на PGF 2α (преди или след отстраняването на тампоните): Група 1 - по време на поставянето на тампоните овцете са третирани със синтетичен аналог на PGF 2α. По време на отстраняването на тампоните е инжектиран 300 UI PMSG. Група 2 - по време на поставянето на тампоните овцете са били третирани със синтетичен аналог на PGF 2α; Група 3 - овцете са били третирани със синтетичен аналог на PGF 2α по време на отстраняването на тампоните. В този експеримент използвахме два различни метода за откриване на на еструс - еструс - детектор и кочове. ССЕ според еструс-детектора бе 87,5%, 77,77% и 55,55% съответно за Групи 1, 2 и 3. ССЕ при покриване от коч бе най-висока при Група 1 - 100% и достоверно се различаваще от стойностите на Група 2 (33,33%) и Група 3 (33,33%). Схемата, която се съдържаше СЖК имаше високи стойности на заплодяемост (87,5%) и плодовитост (171,4%) Заплодяемостта на Група 2 бе 66,67%, но с ниска плодовитост - 1 агне от 1 овца, докато заплодяемостта за група 3 бе 0%.

Резултатите от настоящия експеримент за схемата без PMSG също бяха незадоволителни. Ние предположихме, че стимулите от кочовете (тъй като кочовете се отглеждаха в една и съща сграда) върху оста GnRH/LH, ще са достатъчни, за да предизвикат овулация, но това се оказа невярно. Ефектът на коча е добре известен в овцевъдната практика. Ефектът на коча се дължи предимно на обонятелните стимули, като максималният ефект се дължи на комбинацията на обонятелни, визуални и поведенчески стимули (Hawken et al., 2005). Присъединяването на коч или кочове към предварително изолирани овце в анеструс, води до следните репродуктивни прояви при тях: увеличаване броя на LH пулсациите и

depending on whether a PMSG was used or not, as well as the time of treatment with a synthetic analogue of PGF 2α (before or after the removal of sponges): Group 1 - at the time of the placement of the sponges, the ewes were treated with a synthetic analogue of PGF 2α. At the time of the sponge removal, 300 UI PMSG was injected. Group 2 - at the time of the placement of the sponges, the ewes were treated with a synthetic analogue of PGF 2α; Group 3 – the ewes were treated with a synthetic analogue of PGF 2α at the time of the sponge removal.

In that experiment we used two different methods to detect estrus synchronization – estrus detector and rams. ESR according to the estrus detector was 87,5%, 77,77% and 55,55% respectively to Group 1, 2 and 3. ESR according to ram service was highest at Group 1 – 100% and its value was significantly different from values of Group 2 (33,33%) and Group 3 (33,33%). The protochol, that consisted PMSG had high levels of fertility (87,5%) and fecundity (171,4%). Fertlity of Group 2 was 66,67 % but with low fecundity – 1 lamb from 1 ewe, whereas the fertility for Group 3 was 0%.

The results in present experiment for the protocol without PMSG were unsatisfactory too. We hypothesized that the ram stimuli (because the rams were raised in the same building) to the axis GnRH/LH, should be enough to induce ovulation, but it was not come true.

The ram effect is well known in sheep breeding practice. The effect is mainly due to olfactory stimuli, with the maximum effect due to the combination of olfactory, visual and behavioral stimuli (Hawken et al., 2005).

The addition of a ram or rams to pre-isolated sheep in an anestrus leads to the following reproductive manifestations: increased LH pulsations and induction of

индуциране на овулация на голяма част от овцете (Knight et al., 1978; Oldham, 1980; Martin et al., 1983). Ефектът на коча може да бъде постигнат и без предварителна изолация на овцете от кочовете (Cushwa et al., 1992). Ефектът на коча се проявява и при циклиращи овце, което се изразява в увеличение на LH секретиращите пулсации, като това е независимо от генотипа на овцете или от фазата на естралния цикъл (Hawken et al., 2007).

Ние смятаме, че вероятно потискането от високите нива на прогестаген върху оста GnRH/LH е било по-силно и затова не се е стигнало и запложданe на овцете в еструс. Затова като алтернативи на СЖК стимули върху оста GnRH/LH, трябва да се приложат други прапарати за предизвикване на овулация като например външен GnRH или нови продукти, като kisspeptin - 10 аналог C6 (проучен от Decourt et al., 2019).

ovulation in a large proportion of sheep (Knight et al., 1978; Oldham, 1980; Martin et al., 1983). The ram effect can be achieved without prior isolation of sheep from rams (Cushwa et al., 1992). The effect of the ram is also manifested in cycling sheep, which is expressed in an increase in LH secretory pulsations, regardless of the genotype of the sheep or the phase of the estrous cycle (Hawken et al., 2007).

We supposed that the suppression of high levels of progestogen on the GnRH/LH axis was probably stronger and therefore did not lead to ovulation and fertilization of sheep in estrus. Therefore, as alternatives to PMSG stimuli on the GnRH/LH axis, other products for induction of ovulation such as external GnRH or new products such as kisspeptin-10 analog C6 (studied by Decourt et al., 2019) should be used.

ИЗВОДИ

Схемата, която се състои от 5-дневно прогестагенно лечение плюс синтетичен аналог на PGF 2α, поставен по време на поставянето на тампоните и СЖК по време на отстраняването на тампоните, успешно синхронизира еструс при овцете на 12-месечна възраст от породата Лакон и има високо нива на заполдяемост. Тази схема може да се използва успешно в практика с цел оптимизиране на репродуктивния мениджмънт в интензивното овцевъдство.

CONCLUSIONS

The protocol, that consisted 5 - day progestagen treatment plus synthetic analogue of PGF 2α put at the time of the placement of the sponges and PMSG at the time of the sponge removal successfully synchronized estrus at 12 months aged Lacaune ewes with high level of fertility. This protocol could be used successfully in practice in order to optimize reproductive management in intensive sheep breeding.

БЛАГОДАРНОСТИ

Изследванията, довели до тези резултати са финансирани по Национална научна програма „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България (ННП РЕПРОБИОТЕХ)“ № 0406-105 на Министерството на образованието и науката на Република България.

Авторът изказва благодарност на Мегастрой ООД за предоставената възможност за работа с овцете от тяхното стадо.

ACKNOWLEDGEMENTS

The research that led to these results was funded under the National Scientific Program "Reproductive Biotechnology in Animal Breeding in Bulgaria (NSP REPROBIOTECH)" № 0406-105 of the Ministry of Education and Science of the Republic of Bulgaria.

The author is grateful to: Megastroy Ltd for the opportunity to work with its sheep.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Abecia, J. A., F. Forcada and A. Gonzales-Bulnes**, 2011. Pharmaceutical Control of Reproduction in Sheep and Goats. *Veterinary Clinic of North America: Food Animal Practice,* 27: 67-79.
2. **Cushwa, W. T., G. E. Bradford, G. H. Stabenfeldt, Y. M. Berger and M. R. Dally**, 1992. Ram Influence on Ovarian and Sexual Activity in Anestrus Ewes: Effects of Isolation of Ewes from Rams Before Joining and Date of Ram Introduction. *Journal of Animal Science*, 70: 1195-1200.
3. **Decourt, C., V. Robert, D. Lomet, K. Anger, M. Georgelin, K. Poissenot, M. Pellicer-Rubio, V. Aucagne and M. Beltramo**, 2019. The Kisspeptin Analog C6 Is a Possible Alternative to PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) for Triggering Synchronized and Fertile Ovulations in the Alpine Goat. *PLoS ONE 14(3*): e0214424. https:// doi.org/10.1371/journal.pone.0214424
4. **Harizanova, Ts.**, 2008. Return on and Risk for Investment in Animal Husbandry. PhD Thesis, UNWE, Sofia (Bg)
5. **Hawken, P. R., A. P. Beard, C.M. O'Meara, P. Duffy, K. M. Quinn, T. F. Crosby, M. P. Boland and A. C. O. Evans**, 2005. The Effects of Ram Exposure during Progestagen Oestrus Synchronization and Time of Ram Introduction Post Progestagen Withdrawal on Fertility In Ewes. *Theriogenology*, 63: 860-871.
6. **Hawken, P. R., A. P. Beard, T. Esmaili, H. Kadakowa, A. C. O. Evans, D. Blanche and G. B. Martin**, **2007.** The Introduction of Rams Induces an Increase in Pulsatile LH Secretion in Cyclic Ewes during Breeding Season. *Theriogenology,* 68: 56-66.
7. **Hernandez, F., L. Elvira, J. Gonzalez-Martin, A. Gonzalez-Bulnes and S. Astiz**, 2011. Influence of Age at First Lambing on Reproductive and Productive Performance of Lacaune Dairy Sheep under an Intensive Management System. *Journal of Dairy Research,*78:160-167.
8. **Karaca F., M.B. Ataman and K. Çoyan**, 2009. Synchronization of Estrus with Short- and Long-term Progestagen Treatments and Use of GnRH Prior to Short-term Progestagen Treatment in Ewes. *Small Ruminant Research,* 81: 185-188
9. **Knight, T. W., A. J. Peterson and E. Payne**, 1978. The Ovarian and Hormonal Response of the Ewe to Stimulation by Ram Early in the Breeding Season. *Theriogenology,* 10: 343.
10. **Martemucci, G. and A. G. D'Alessandro**, 2011. Synchronization of Oestrus and Ovulation by Short Time Combined FGA, PGF2α, GnRH, eCG Treatments for Natural Service or AI Fixed-time. *Animal Reproduction Science,* 123: 32-39.
11. **Martin G. B., R. J. Scaramuzzi and D. R. Lindsay**, 1983. Effect of the Introduction of Rams during the Anestrous Season on the Pulsatile Secretion of LH in Ovariectomized Ewes. *Journal of Reproduction and Fertility,* 67: 47-55.
12. **Martinez-Ros, P., A. Gonzalez-Bulnes, E. Garcia-Rosello, A. Rios-Abellan and S. Astiz**, 2019a. Effect of Short-term Intravaginal Progestagen Treatment on Fertility Nad Prolificacy after Natural Breeding in Sheep at Different Reproductive Seasons. *Journal of Applied Animal Research*, 47(1), 201-205
13. **Martinez-Ros, P., A. Rios-Abellan and A. Gonzalez-Bulnes**, 2019b. Influence of Progesterone –Treatment Length and eCG Admistration on Appearance of Estrous Behavior, Ovulatory Success and Fertility in Sheep. *Animals*, 9(1), 9 (1-9).
14. **Martinez-Ros, P. and A. Gonzalez-Bulnes**, 2019. Efficiency of CIDR-Based Protocols Including GnRH Instead of eCG for Estrus Synchronization in Sheep. *Animals,* 9(4): 146 (2-11).

15. **Menchaca, A. and E. Rubianes**, 2004. New Treatments Associated with Timed Artificial Insemination in Small Ruminants. *Reproduction, Fertility and Development,* 16: 403-413.
16. **Metodiev, N. and E. Raicheva**, 2011. Effect of the Short-term Progestagen Treatments plus PMSG Prior Ram Introduction on the Estrus Synchronization and the Fertility of Ile de France Ewes in the Beginning of Mating Season. *Biotechnology in Animal Husbrandry,* 27 (3: book 2): 1157-1166.
17. **Metodiev N., D. Dimov and M. Yotova**, 2018. Synchornization of Estrus by Short-term Progestagen Treatments and Synthetic Analogue of PGF 2ϭ at Nulliparous Ewes from Synthetic Population Bulgarian Milk. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans,* 21: 1-8
18. **Oldham, C. M. and Y. Cognié**, 1980. Do Ewes Continue to Cycle after Teasing? *Proceeding of the Australian Society of Animal Production*, 13: 82.