

**РЕЗЮМЕТА НА ПУБЛИКУВАНИТЕ ТРУДОВЕ, СЛЕД
ЗАЩИТА НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЯ**
**на гл. ас. д-р Анатоли Стефанов Атанасов, представени в конкурс за
заемане на академичната длъжност „Доцент“ в област на висше
образование 6. Аграрни науки и Ветеринарна медицина,
професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, по
„Акушерство и гинекология на животните и болести на новородените
животни“, обявен в ДВ бр. 56/19.07.2022 г.**

I. Статии в научни списания в пълен текст, публикувани в реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Scopus и Web of science)

1. Antonov, A.L., Atanasov, A.S., Fasulkov, I.R., Georgiev, P.I., Yotov S.A, Karadaev, M.P., Vasilev, N.Y., 2015. Influence of some factors on the incidence of pyometra in the bitch. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 18 (4):367-372. ISSN: 1311-1477 print, ISSN: 1313-3543 online. (Scopus) SJR 2015 = 0.177

Abstract: The aim of the present study was to determine the influence of breed, age, season, mating, pregnancy, progestin contraceptive treatment and the onset time of the disease after the last heat on the incidence and epidemiology of canine pyometra in Bulgaria. The investigation included 217 bitches suffering from pyometra. We found that the disorder was most often observed in 7-year-old, mixed breed bitches, most frequently in September and 4 weeks after the heat.

Резюме: Влияние на някои фактори върху разпространението на пиометра при кучката.

Целта на проведеното изследване беше да се определи влиянието на порода, възраст, сезон, покриване, бременност, прогестин контрацептивно лечение и време на начало на заболяването след последния еструс върху разпространението и епидемиологията на пиометрата при кучката в България. Проучването включваше 217 кучки, страдащи от пиометра. Установено беше, че заболяването се наблюдава най-често при кучета от смесена порода на 7-годишна възраст, с най-голяма честота през месец септември и 4 седмици след еструса.

2. Yotov, S., A. Atanasov, M. Karadaev, L. Dimova & D. Velislavova 2016. Pregnancy rate in dry and lactating goats after estrus synchronisation with artificial insemination and natural breeding (a field study). Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 19 (3):218-223. ISSN: 1311-1477 print, ISSN: 1313-3543 online. (Scopus) SJR 2016 = 0.149

Abstract: The objective of this study was to determine the pregnancy rate in dry and lactating goats after estrus synchronisation with artificial insemination and natural breeding of unconceived animals. The investigation was conducted with 75 dry (group I) and 32 lactating (group II) local goats in breeding season. All animals were submitted to estrus synchronisation by intravaginal sponges for 12 days, PMSG injection on day of sponge removal and two artificial inseminations (AI) with fresh semen – 48 and 56 hours after sponge withdrawal. Two weeks after the AI, daily test for goats which had not conceived after the AI was performed by teaser and the detected animals in estrus were naturally mated with a fertile buck. Ultrasonographic pregnancy examination was carried out at 20-day intervals until day 100 after the AI. The pregnancy rate in artificially inseminated and naturally bred animals and the interestrus intervals were calculated. The pregnancy rate between both synchronised groups differed significantly ($P<0.05$), while the values in the groups with natural breeding were comparable. Different pregnancy rates between artificially inseminated and naturally bred goats in group I (72% vs. 42.9%) and group II (19% vs. 73%) were registered ($P<0.05$). Additionally, considerable differences ($P<0.05$) between the values after first natural breeding (9.6% and 46.6%) were detected. The total pregnancy rate (84%) in dry goats was higher ($P<0.05$) than that (54%) in lactating animals. The interestrus intervals were similar ($P=0.2$). In conclusion, the current data could be used for optimisation of the pregnancy rate and the reproductive efficiency in local goat breeds.

Резюме: Стойност на бременността при пресушени и лактиращи кози след синхронизация на еструса с изкуствено осеменяване и естествено размножаване. (Теренно проучване).

Целта на това проучване беше да се определи стойността на бременността при пресушени и лактиращи кози след синхронизация на еструса с изкуствено осеменяване и покриване от разплодник на незаплодените животни. Изследването беше проведено със 75 пресушени (група I) и 32 лактиращи (група II) местни кози в размножителен сезон. Всички животни бяха подложени на синхронизация на еструса чрез интравагинални тампони за 12 дни, инжектиране на PMSG в деня на отстраняване на тампона и двукратно изкуствено осеменяване (ИО) със свежа сперма - 48 и 56 часа след изваждане на тампона. Две седмици след изкуственото осеменяване се извършваше ежедневен тест за наличие на еструс чрез пробник и незаплодените след изкуствено осеменяване животни бяха покривани от фертилен пръч. Ултразвуковото изследване за бременност се провеждаше през интервал от 20 дни до 100-ия ден след изкуственото осеменяване. Изчислени бяха стойност на бременността след изкуствено осеменяване, след покриване от пръч и интересеструсен интервал. Стойността на бременността между двете синхронизирани групи се различаваше значително ($P < 0.05$), докато стойностите в групите с покриване от пръч бяха близки. Регистрирани бяха разлики в стойността на бременността между изкуствено осеменени и естествено покрити кози в група I (72% срещу 42.9%) и група II (19% срещу 73%) ($P < 0.05$). Освен това, бяха открити значителни разлики ($P < 0.05$) между стойностите след първо покриване (9.6% и 46.6%). Общата стойност на бременността (84%) при пресушените кози беше по-висок ($P < 0.05$) от този (54%) при лактиращите животни. Интервалите между два еструса бяха близки ($P = 0.2$). В заключение, настоящите данни могат да бъдат използвани за оптимизиране на стойността на бременността и репродуктивната ефективност при местните породи кози.

3. Yotov S., Atanasov A., 2018. Dominant follicles development and estradiol-17 β concentrations in non-ovulating and ovulating post-partum Bulgarian Murrah buffaloes. *Reproduction in Domestic Animals*, 53 (1):20-25. ISSN:1439-0531.

(Web of science) IF 2018 = 1.638

Abstract: This study was designed to evaluate the dominant follicles development and the estradiol-17 β concentrations in non-ovulating and ovulating post-partum buffaloes. Sixteen Bulgarian Murrah buffaloes were submitted to transrectal ultrasonographic examination from the 1st post-partum day until day 50, 3 days apart. The follicular diameter of the different categories of follicles and the ovulations was recorded. The animals were allocated into two groups: I ($n=6$) non-ovulating and II ($n = 10$) ovulating buffaloes. Serum estradiol-17 β concentrations on the days for dominant follicle registration were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The results were statistically processed by analysis of variance, non-parametric and correlation analysis. The mean intervals between calving and first dominant follicle detection differed significantly ($p < .05$) among the groups (19.5 ± 6.2 vs. 13.8 ± 5.1 days), while the mean intervals between registered dominant follicles from two successive waves were comparable. The mean follicular diameters for the same category follicles in both groups were similar. Different estradiol-17 β concentrations ($p < .05$) for the first dominant follicle between non-ovulating (23.5 ± 7.0 pg/ml) and ovulating (33.3 ± 8.4 pg/ml) buffaloes were determined. The cumulative percentages of buffaloes with firstly detected dominant follicle and ovulating animals correlated positively ($r \geq 0.84$; $p < 0.05$) to post-partum days. In conclusion, non-ovulating and ovulating post-partum Bulgarian Murrah buffaloes showed differences in the development of the first dominant follicle and estradiol-17 β concentrations during the time of dominant follicles detection.

Резюме: Развитие на доминантните фоликули и концентрации на естрадиол-17 β при неовулиращи и овулиращи след раждане биволици от породата Българска Мурра.

Изследването беше предназначено да прецени развитието на доминантните фоликули и концентрациите на естрадиол-17 β при неовулиращи и овулиращи биволици след раждане. Шестнадесет биволици от породата Българска Мурра бяха подложени на трансректално ултразвуково изследване от първи ден след раждане до ден 50, през период от 3 дни. Регистрирани бяха диаметър на фоликулите от различните категории и овулациите. Животните бяха разпределени в две групи: I ($n=6$) неовулиращи и II ($n=10$) овулиращи биволици. Серумните концентрации на естрадиол-17 β се измерваха чрез ензимно свързан имуносорбентен анализ в дните за регистрация на доминантни фоликули. Резултатите бяха статистически обработени чрез дисперсионен анализ, непараметричен метод и корелационен анализ. Средните интервали между отелване и откриване на първия доминантен фоликул се различаваха значително ($p < 0.05$) между групите (19.5 ± 6.2 спрямо 13.8 ± 5.1 дни), докато средните интервали между регистрираните доминантни фоликули от две последователни фоликулни вълни бяха близки. Средните диаметри на фоликулите от една и съща категория в двете групи бяха сходни. Установени бяха различни концентрации на естрадиол-17 β ($p < 0.05$) за първия доминантен фоликул между неовулиращи (23.5 ± 7.0 pg/ml) и овулиращи (33.3 ± 8.4 pg/ml) биволици. Кумулативните проценти на биволици с първоначално открити доминантни фоликули и овулиралите животни бяха в положителна корелация ($r \geq 0.84$; $p < 0.05$) с дните след раждане. В заключение, неовулиращите и овулиращите след раждане биволици от породата

Българска Мурра показват разлики в развитието на първия доминантен фоликул след раждане и концентрациите на естрадиол-17 β по време на откриване на доминантните фоликули.

4. Rusenova, N., Krustev, S., Atanasov, A., Rusenov, A., Stanilova, S., 2020. Differentiation of Staphylococcus pseudintermedius in the Staphylococcus intermedius Group (SIG) by Conventional and Molecular Methods. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 26(5). (Web of science) IF 2020 = 0,263

Abstract: Staphylococcus pseudintermedius is a member of the Staphylococcus intermedius group (SIG) comprising representatives with similar phenotypic characteristics. The purpose of this study was to optimise a method for accurate differentiation of S. pseudintermedius in clinical samples from dogs and cats based on PCR-RFLP analysis, following the key biochemical tests for SIG group assignment, and to determine the prevalence of S. pseudintermedius compared to other members of the SIG group. To implement this, 158 isolates from dogs and 17 from cats, 4 reference strains - S. intermedius ATCC 29663, S. pseudintermedius LMG 22219, Staphylococcus delphini ATCC 49171, Staphylococcus aureus ATCC 25922 and 5 field strains of S. aureus were analysed. The generated PCR-RFLP profile (pta gene, MboI restriction enzyme) clearly differentiated S. pseudintermedius within the SIG group by having two distinctive bands of 213 and 107 bp, respectively. The data showed a predominance of S. pseudintermedius in clinical samples from dogs, while no S. pseudintermedius were found among the cat's samples. In conclusion, due to the atypical biochemical reactions found in some S. pseudintermedius isolates (14.6%), precise identification should be based on an extensive phenotypic assay together with a molecular biological method or the latter alone.

Резюме: Диференциация на Staphylococcus pseudintermedius в Staphylococcus intermedius групата (SIG) чрез конвенционални и молекулярни методи.

Staphylococcus pseudintermedius е представител на Staphylococcus intermedius групата (SIG), състояща се от микроорганизми с подобни фенотипни характеристики. Целта на настоящото проучване беше да се оптимизира метод за точна диференциация на S. pseudintermedius в клинични проби от кучета и котки, базирано на PCR-RFLP анализ, последващ основните биохимични тестове за диагностика на патогени от SIG група. Също така да се определи разпространението на S. pseudintermedius в сравнение с други представители на SIG групата. За да изпълним това 158 изолата от кучета, 17 от котки, 4 референтни щама - S. intermedius ATCC 29663, S. pseudintermedius LMG 22219, Staphylococcus delphini ATCC 49171, Staphylococcus aureus ATCC 25922 и 5 полеви щама S. aureus бяха анализирани. Полученият PCR-RFLP профил (pta gene, MboI restriction enzyme) ясно идентифицира S. pseudintermedius в рамките на SIG групата чрез две ясни линии от 213 и 107. Данните показаха преобладаване на S. pseudintermedius в клиничните проби от кучета, докато в пробите от котки не беше установен S. Pseudintermedius. В заключение поради атипична биохимична реакция при някои изолати на S. pseudintermedius (14.6%), точната диагностика трябва да се базира на екстензивен фенотипен анализ, в комбинация с молекулярно биологичен метод или на самостоятелно приложение на последния.

5. Yotov, S., Atanasov, A., Fasulkov, I., Karadaev, M., Antonov, A., Georgiev, P., Kistanova, E. 2020. Sperm motility and viability of chilled ram semen collected by artificial vagina and electroejaculation. Veterinarija ir Zootechnika, Vol. 78, No 100, pp. 45-49. (Web of science) IF 2020 = 0.286

Abstract: The current study aimed to evaluate motility and viability of chilled ram semen collected by artificial vagina and electroejaculation during the non-breeding season. A total of 18 ejaculates from clinically healthy rams in a non-breeding season were collected by artificial vagina (AV; n = 9) and electroejaculation (EE; n = 9) and submitted to preliminary evaluation. After that all ejaculates were diluted through a Tris-based extender containing low concentration (5%) of glycerol and egg yolk and stored at 5°C for 48 hours. Motility and viability of semen samples were evaluated at 0, 6, 24 and 48 h of storage. Estimation of motility was carried out by a microscopic digital system, and viability was assessed by the one-step eosin-nigrosin staining technique. Until 6 h of storage, the differences between motility and viability of semen collected by AV or EE were non-significant, while at 24 and 48 h the parameters were higher (P < 0.05) in semen collected by AV. The increasing time of storage correlated negatively with the evaluated parameters (P < 0.05). In conclusion, the chilled semen from ram in the non-breeding season collected by AV demonstrated better motility and viability until 48 h, compared with the semen collected by EE, and could be recommended for artificial insemination up to 24 h after storage at 5°C. The time of storage had a negative effect on sperm motility and viability (P < 0.05).

Резюме: Подвижност и преживяемост на сперматозоиди в охладена семенна течност от кочове получена чрез изкуствена вагина и електроеякулатор.

Целта на настоящото изследване беше да се определи подвижността и жизнеспособността на охладена семенна течност, получена чрез изкуствена вагина и електроеякулатор, през неразмножителен сезон. Бяха

получени общо 18 еякулата от клинично здрави кочове през неразмножителен сезон чрез изкуствена вагина (AV; n = 9) и електроеякулатор (EE; n = 9) и подложени на първична преценка. В следствие всички еякулати бяха разредени с Tris-базиран сперморазредител, съдържащ ниска концентрация (5%) глицерол и яйчен жълтък и съхранени при температура 5°C за 48 часа. Подвижността и преживемостта на разредените еякулати бяха определени на 0, 6, 24 и 48 час от съхранението. Подвижността беше определяна посредством дигитална микроскопска система, а жизнеността чрез едностъпково еозин-нигрозин суправитално оцветяване. До 6 час от съхранението разликите в подвижността и жизнеспособността на еякулатите получени чрез изкуствена вагина и електроеякулатор бяха незначими, докато на 24 и 48 час изследваните параметри бяха по-високи ($P < 0.05$) при семенната течност получена чрез изкуствена вагина. Увеличаването на времето на съхранение корелираше негативно с изследваните параметри ($P < 0.05$). В заключение охладената семенна течност от коч, в неразмножителен сезон, получена чрез изкуствена вагина, демонстрира по-добра подвижност и жизнеспособност до 48 час в сравнение със семенна течност получена чрез електроеякулатор. Такава семенна течност може да се препоръча за изкуствено осеменяване до 24 часа след съхранение при 5°C. Времето на съхранение оказва негативно въздействие върху подвижността и жизнеспособността на семенната течност.

6. Yotov, S., Atanasov, A., Fasulkov, I., Yarkov, D., Sinapov, B. 2022. Effect of ovarian status on reproductive performance in dairy heifers inseminated with sexed semen. Acta Scientiae Veterinariae, Vol. 50, Article No 1867. (Web of science) IF 2021 = 0.305

Abstract: The intensive reproductive management in the dairy farms requires inclusion of a large group of replacement heifers in the breeding program for a shorter period. In this aspect, a creation of effective estrus synchronization protocols with timed artificial insemination (TAI) by sexed semen and optimization of the current ones have a crucial role for obtaining high pregnancy rate. These protocols are beneficial, because they led to reduced interval to first AI, lack of need for estrus detection, and allow obtaining a large group of female calves for on time. Because of limited fertilizing potential of sexed spermatozoa this type of semen is applied mainly for heifers, as fertility is higher compared to lactating cows. The main objective of the present study was to investigate the effect of ovarian status on the reproductive performance in dairy heifers subjected to estrus synchronization and timed artificial insemination with sexed semen.

Materials, Methods & Results: Forty-eight Holstein healthy heifers separated in 2 groups were subjected to PGF2 α -GnRH pre-treatment and Ovsynch or PRID-5-day estrus synchronization protocol and timed artificial insemination (TAI) with sex-sorted semen, starting 6 days after end of the hormonal pre-treatment. The ovarian status (presence of follicles with or not a corpus luteum) of the heifers at the begin of the treatment, on day of TAI and pregnancy rate in different groups were determined and compared. Additionally, the ovarian status at the begin of the treatment, ovarian status and size of preovulatory follicle (PF) on day of TAI and total values for both groups according to reproductive performance (pregnant or non-pregnant) were also analyzed. On day of TAI the animals with PF and a lack of corpus luteum (CL) in both groups were more that those with PF and CL (39.3% and 30% vs. 60.7 % and 70%), with significant ($P < 0.05$) difference in PRID-5-day group. The pregnancy rate tended to be higher in PRID-5 day than Ovsynch treatment (65% vs. 35.7%). A higher percentage (100% and 67.9%) of the pregnant animals in both treatments had not CL on day of TAI, and the size of the PF (1.58 \pm 0.12 cm and 1.64 \pm 0.13 cm) was increased ($P < 0.05$). Similar effects of the ovarian status on reproductive performance were obtained after a comparison of the total values between pregnant and non-pregnant animals. The percentage of heifers with observed PF without CL on day of TAI was significantly greater ($P < 0.05$) in pregnant compared to non-pregnant group (91.3% vs. 40%). The opposite dependence was determined for the parameter presence of follicles and corpus luteum (8.7% vs. 60%; $P < 0.05$). Furthermore, the size of the PF measured immediately before TAI was increased in animals became pregnant (1.60 \pm 0.12 cm vs. 1.34 \pm 0.17 cm; $P < 0.05$).

Discussion: The analysis of the obtained results showed that the ovarian status on day of TAI affects the reproductive performance in dairy heifers subjected to estrus synchronization and timed artificial insemination with sexed semen. Hormonal pre-treatment with onset of PRID-5-day protocol 6 days later and TAI with sex-sorted semen ensure acceptable pregnancy rate. The greater preovulatory follicle and a lack of corpus luteum before insemination provide significantly ($P < 0.05$) more pregnant animals, compared to the cases when CL is presented. Ultrasound determination of the ovarian function before insemination can be used in selection of heifers for TAI with sex-sorted semen.

Резюме: Влияние на овариалния статус върху репродуктивното представяне на млекодайни юници осеменени със сексирана семенна течност.

Интензивният репродуктивен мениджмънт в млекодайните ферми изсква включването на голяма група ремонтни юници в развъдните програми за кратък период. В тази връзка създаването на ефективни протоколи за синхронизация на еструса и изкуствено осеменяване във фиксирано време, със сексирана семенна течност и оптимизиране на съществуващите протоколи имат съществена роля за постигане на

висока заплодяемост. Тези протоколи са ефективни защото спомагат за скъсяване на интервала до първо заплождане, елиминират нуждата от откриване на животните в еструс и позволяват получаването на голяма група женски животни в определен период. Поради ограничения оплодителен потенциал на сексираната семенна течност тя основно се използва при юници защото при тях заплодяемостта е по-висока в сравнение с лактиращите крави. Основната цел на настоящото изследване беше да се установи ефекта на овариалния статус върху репродуктивното представяне на млекодайни юници, подложени на синхронизация на еструса и програмирано изкуствено осеменяване със сексирана семенна течност.

Материал, Методи и Резултати: Четиридесет и осем Холщайн юници, разделени в две групи, бяха подложени на PGF2 α -GnRH пресинхронизация, Ovsynch или PRID-5-дневен протокол за синхронизация на еструса започващи 6 дни след края на пресинхронизацията, изкуствено осеменяване във фиксирано време (TAI) със сексирана семенна течност. with sex-sorted semen. Беше определена овариалната находка (наличие на фоликули с или без жълто тяло) при юниците в началото на третирането и в деня на осеменяването. Също така беше регистрирана и сравнена заплодяемостта при отделните групи. Допълнително бяха определени общите стойности за двете групи на овариалния статус в началото на третирането и при осеменяването, размера на преовулаторния фоликул по отношение на репродуктивния статус (бременни и небременни животни). В деня на осеменяването животните с доминантен фоликул (PF) без жълто тяло (CL) в двете групи бяха повече в сравнение с тези с PF и CL (39.3% и 30% срещу 60.7% и 70%), с достоверна ($P < 0.05$) разлика в PRID-5-дневна група. Беше регистрирана тенденция за по-висока заплодяемост в PRID-5 дневна в сравнение с Ovsynch групата (65% vs. 35.7%). Голям процент (100% and 67.9%) от бременните животни при двете групи нямаха CL в деня на TAI и размера на PF (1.58 \pm 0.12 cm and 1.64 \pm 0.13 cm) беше увеличен ($P < 0.05$). Подобен ефект на овариалния статус върху репродуктивното представяне беше установен след сравнение на общите стойности на показателите по отношение на бременни и небременни животни. Процентът на юниците с наличен PF без CL в деня на TAI беше достоверно по-висок ($P < 0.05$) при бременните в сравнение с небременните (91.3% vs. 40%). Обратна зависимост беше установена по отношение на параметъра наличие на фоликул и жълто тяло (8.7% vs. 60%; $P < 0.05$). Освен това, размерът на PF измерен непосредствено преди TAI беше по-голям при бременните (1.60 \pm 0.12 cm срещу 1.34 \pm 0.17 cm; $P < 0.05$).

Дискусия: Анализът на получените резултати показва, че овариалния статус в деня на TAI влияе върху репродуктивното представяне на млекодайни юници, подложени на синхронизация на еструса и изкуствено осеменяване във фиксирано време, със сексирана семенна течност. Хормоналната пресинхронизация съчетана с PRID-5-дневен протокол, започващ 6 дни по-късно и TAI със сексирана семенна течност осигуряват приемлива заплодяемост. Преовулаторен фоликул с по-голям размер и липса на жълто тяло преди осеменяването водят до достоверно ($P < 0.05$) повече бременни животни, в сравнение с тези при които има регистрирано жълто тяло. Ехографското определяне на овариалното състояние преди осеменяването може да се използва за селектиране на юници за TAI със сексирана семенна течност.

II. Статии в научни списания и сборници от конгреси и конференции в пълен текст, публикувани в нереферирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни томове

1. Yotov Stanimir, Atanasov Anatoli, Ilieva Yordanka, Dimova Lora, Hadzhibozheva Petya and Georgiev Tsvetelin 2016. Effect of hormonal treatment during early postpartum period on uterine involution, steroid hormone levels and ovarian activity in Bulgarian Murrah buffaloes. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 5 (5):593-600. ISSN: 2319-7706.

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of the hormonal treatment during early postpartum period on the uterine involution, the steroid hormone levels and the ovarian activity in Bulgarian Murrah buffaloes. The experiment was carried out with 20 clinically healthy animals in breeding season, randomly allotted in two groups: control group (non treated; n=10) and experimental group (hormonal treated; n=10) received 100 μ g GnRH and 25 mg PGF2 α seven days apart starting at day 14 after calving. Fertile bulls were ensured for all buffaloes. A transrectal ultrasonographic examination of the uterus and the ovaries and blood samples collection were performed at the days of the treatment. Serum estradiol-17 β and progesterone levels were determined by ELISA. Ultrasound pregnancy check was done at day 30 and 60 postpartum. After data processing, mean cervical and gravid uterine horn diameters, involution rate of cervix and gravid uterine horn, percentage of the buffaloes bearing large follicle and/or corpus luteum, mean concentration of steroid hormones and pregnant buffaloes were

calculated. The present study demonstrated significant ($P>0.05$) decrease of the mean diameters of cervix and gravid uterine horn with increased follicular activity and mean concentration of estradiol-17 β in treated compared to non-treated buffaloes between days 14 and 21 postpartum. The earlier uterine involution and resumption of ovarian activity in the experimental group corresponded with significant ($P>0.05$) enhancement of progesterone at day 21 and 20% pregnant animals after hormonal treatment. In conclusion, the application of GnRH-PGF2 α protocol 7 days apart starting at day 14 postpartum resulted in accelerated uterine involution and earlier resumption of the ovarian activity and could be used for improvement of the reproduction in postpartum Bulgarian Murrah buffaloes.

Резюме: Влияние на хормоналното третиране през ранния следродилен период върху маточната инволюция, нивата на стероидните хормони и яйчниковата активност при биволици от породата Българска Мурра.

Целта на това проучване беше да се оцени влиянието на хормоналното третиране по време на ранния следродилен период върху инволюцията на матката, нивата на стероидните хормони и активността на яйчниците при биволици от породата Българска Мурра. Експериментът беше проведен с 20 клинично здрави животни в размножителен сезон, разпределени на случаен принцип в две групи: контролна група (нетретирана; n=10) и експериментална група (хормонално третирана; n=10), получаващи GnRH 100 μ g и PGF2 α 25 mg през седем дни, започвайки на ден 14 след отелване. Всички биволици имаха достъп до фертилни бици. В дните на третиране беше извършено трансректално ултразвуково изследване на матката и яйчниците и получаване на кръвни проби. Серумните нива на естрадиол-17 β и прогестерон се определяха чрез ELISA. Ултразвукова проверка за бременност беше извършена на 30-ти и 60-ти ден след раждането. След обработката на данните бяха изчислени среден диаметър на шийката на матката и плодоносещия маточен рог, скорост на инволюция на шийката на матката и плодоносещия маточен рог, процент на биволиците с голям фоликул и/или жълто тяло, средна концентрация на стероидните хормони и процент на бременните биволици. Настоящото проучване показваше значително ($P>0.05$) понижение на средния диаметър на маточната шийка и плодоносещия маточен рог с повишена фоликулна активност и средна концентрация на естрадиол-17 β при третираните, в сравнение с нетретираните биволици между 14-ия и 21-ия ден след раждане. По-ранната маточна инволюция и възобновяване на овариалната активност в експерименталната група, съответстваше на значителното ($P>0.05$) повишаване на прогестерон на 21-ия ден и установяване на 20% бременни животни след хормоналното третиране. В заключение, приложението на протокол GnRH-PGF2 α през период от 7 дни, започващ на 14-ия ден след раждане, води до ускорена инволюция на матката и по-ранно възстановяване на яйчниковата активност и може да се използва за подобряване на репродукцията биволици от породата Българска Мурра.

2. Antonov, A., Atanasov, A., 2016. Giant mucometra in a Golden Retriever bitch: a case report. International Journal Of Advances In Case Reports, 2016;3(4):189-192.

Abstract: Mucometra, literally meaning presence of seromucous intrauterine fluid, is a rare disease of intact bitches, similar to pyometra. Although it is usually not a life-threatening condition, it has a particular importance for every veterinary practitioner. The aim of the present report was to describe a clinical case of mucometra in a Golden Retriever bitch with a large amount of uterine fluid, which was developed after the administration of exogenous progesterone for estrus suppression.

Резюме: Гигантска мукометра при Голдън ретривър – клиничен случай.

Мукометрата представлява натрупване на воднист секрет в маточната кухина и е рядко срещано състояние при некастрирани кучки, което наподобява пиометрата. Въпреки че не е животозастрашаващо състояние, тя е от значение за всеки практикуващ ветеринарен лекар. Описан е клиничен случай на мукометра при кучка от породата Голдън ретривър с наличие на много голямо количество маточно съдържание, причинена от екзогенно приложение на прогестини с цел подтискане на еструса.

3. Атанасов, А., 2016. Летен анеструс при биволицата. Ветеринарна практика, 3: 34-36.

Резюме: Термичната устойчивост на организма е резултат от комплексното взаимодействие между респираторната, сърдечно-съдовата, нервната и ендокринната системи. Различните стопански видове притежават специфични адаптивни механизми, които ги правят подходящи за по-горещ или по-студен климат. Силната чувствителност на термичен стрес при бивола се определя от някои специфични особености в хистологичната структура на кожата. Излагането му на екстремно високи температури предизвиква драстично намаляване на приема, разграждането и усвояването на фуражите, нарушения във водния, минералния и енергийния метаболизъм, репродуктивни смущения и понижена продуктивност. На ниво хипоталамус-хипофиза термичният стрес предизвиква повишено отделяне на пролактин (LTH), което повлиява негативно баланса между фоликулостимулиращия (FSH) и лутеинизиращия (LH) хормон. Засегнатите биволици проявяват истински анеструс (при ректална палпация яйчниците са малки, с гладка

повърхност) или тих еструс, при който настъпва овулация, но няма ясна изява на естрално поведение (при ректална палпация освен фоликули, в яйчниците се установяват и жълти тела). Освен прилагането на профилактичните мероприятия е необходимо и своевременно откриване на засегнатите животни. При тях могат да се използват различни хормонални схеми на терапия в зависимост от репродуктивното им състояние и съответно мениджмънта на фермата. Летният анеструс е една от основните пречки за реализиране на оптимален репродуктивен мениджмънт, която при прилагане на съвременни методи за диагностика, терапия и профилактика може да бъде преодоляна доста успешно и да подобри значително икономическата ефективност от отглеждането на биволи в България.

4. Antonov, A. L., A. S. Atanasov, R. S. Simeonov, 2017. Unilateral ovariocornuectomy-a successful treatment to preserve fertility in bitches with granulosa cell tumour. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 20, Suppl. 1, 319-323.

Abstract: Granulosa cell tumour is a common neoplasm in the bitch ovary. This report describes two clinical cases of successful unilateral ovariocornuectomy in bitches with granulosa cell tumours in order to preserve their fertility. A 3-year-old Doberman pincher (patient 1) and 4-year-old English bulldog (patient 2) were presented with a history of sero-sanguineous vaginal discharge associated with other estrus signs (vulvar oedema, attractiveness to male dogs) for 42 and 45 days, respectively. Vaginal smears in both cases consisted of superficial and squamous cells. Abdominal ultrasonography showed unilateral hypoechoic heterogenous formations caudal to the right kidneys. Exploratory laparotomy revealed ovarian masses in both cases, which were removed by unilateral ovariocornuectomy and histopathologically diagnosed as granulosa cell tumours. The patients fully recovered postoperatively. At the following breedings the patient 1 gave natural birth three times (two times to six and once to seven live puppies, respectively) and the patient 2 gave birth to one live puppy by Caesarean section. These two cases show that unilateral ovariocornuectomy in bitches with granulosa cell tumors may be a successful treatment in order to preserve their breeding ability.

Резюме: Унилатерална овариокорнектомия – успешен метод на третиране за запазване на репродуктивните функции при кучки с гранулозно клетъчен тумор. Гранулозно клетъчният тумор е често срещана неоплазия на яйчниците при кучетата. Описани са два случая на успешно едностранно отстраняване на яйчник заедно с прилежащия маточен рог при кучки с наличие на гранулозно клетъчен тумор с цел запазване на репродуктивните им способности. Три годишен Доберман (пациент 1) и 4 годишен Английски булдог (пациент 2) бяха доведени с анамнеза за наличие на серозно хеморагични вагинални изтечения, съпроводени с други признаци на еструс (едем на вулвата, атрактивност за мъжки кучета) в продължение на съответно 42 и 45 дни. Цитовагиналната находка и в двата случая показа наличие на повърхностни и вроговени епителни клетки. При извършване на трансабдоминална ехография се визуализираха хипоехогенни и хетерогенни образувания непосредствено зад левите бъбреци. При проведените лапаротомии установихме наличие на яйчникови маси, които бяха отстранени заедно с прилежащия им маточен рог, а при патохистологичното им изследване диагностицирахме като гранулозно клетъчни тумори. Следоперативното възстановяване на пациентите протече нормално. След последвали осеменявания по време на нормално протекли естрални цикли, пациент 1 роди естествено 3 пъти (2 пъти по 6 кученца и един път-7), а пациент 2 роди веднъж 1 кученце чрез Цезарово сечение. Тези два клинични случая показват, че едностранното отстраняване на яйчник заедно с прилежащия му маточен рог при кучки с наличие на гранулозно клетъчен тумор може да бъде успешен метод за запазване на репродуктивните им способности.

5. Георгиев, П., Антонов, А., Иванова, Ц., Калканов, И., Атанасов, А., Карадаев, М., Динев И., 2017. Случай на екстремна хипогликемия при бременна кучка. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 2017, 20, Suppl. 1, 313–318.

Abstract: The clinical signs and the course of extreme periparturient hypoglycaemia in a pregnant bitch are described. The primary signs were lethargy, hypothermia, refusal to eat, increased blood creatine kinase, alkaline phosphatase and slowing down of foetal heart activity. Despite the stabilisation of the bitch after the medication therapy, she died and foetuses were stillborn after the Caesarean section. The gross anatomy study demonstrated damage of internal organs. The results confirmed that prepartum recumbency in bitches accompanied with deterioration of its general condition, very low blood glucose concentrations and foetal distress are associated with poor prognosis for both the dam and its litter.

Резюме: Описани са признаците и развитието на екстремна хипогликемия при бременна кучка. Първичните признаци включваха летаргия, хипотермия, отказ да се храни, увеличени стойности на креатин киназа, алкална фосфатаза и забавена сърдечна дейност на фетусите. Въпреки стабилизацията на пациента след приложената медикаментозна терапия, изходът беше летален, както за майката, така и за фетусите. Патологоанатомичното изследване показа наличие на увреждания на вътрешните органи. Резултатите показват, че залежаването преди раждане при кучката, съпроводено с влошаване на общото

състояние, много ниските нива на кръвна захар и наличие на фетален дистрес се съпровождат с лоша прогноза, както за майката, така и за плодовете.

6. Атанасов, А., Канъков, Д., Антонов, А., Симеонова, Г., 2017. Ендоскопско отстраняване на ендометриална киста при кобила. Ветеринарна сбирка, 3-4: 44-47.

Резюме: Целта на настоящата статия е да представи клиничен случай на ендоскопско отстраняване на ендометриална киста при кобила от породата Български спортен кон.

7. Yotov, S., M. Karadaev, A. Atanasov, I. Fasulkov, A. Antonov and Kistanova, E., 2019 Effect of extenders containing glycerol and egg yolk on motility and viability of chilled ram semen collected during non-breeding season. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 8(05):588-596. ISSN: 2319-7706.

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of Tris-based extenders containing glycerol and egg yolk on the motility and viability of chilled ram semen collected during non-breeding season. Nine ejaculates from three healthy rams in non-breeding season were collected by artificial vagina method. The semen was diluted with Steridyl (ST), Triladyl (TRY) or Tris-based extender containing 5 % glycerol and 5% egg-yolk (TGGY) to a final concentration 200x10⁹ sperm/ml. Semen samples (n=9) for each extender were stored at 50C for 72 hours. Motility and viability were evaluated at 0, 6, 24, 48 and 72 h of storage. The results were statistically processed and the influence of extender and time of storage were recorded. After 6 h of storage the initial motility and viability did decrease (P<0.05) in all extenders but until 48 h significant differences among values for the same interval were not determined. At 72 h the values for ST and TGGY were increased (P<0.05) compared to TRY, but rather unsatisfactory. The increased time of storage was negatively correlated with both indicators in all extenders (P<0.05). In conclusion, Tris-based extenders containing glycerol and egg yolk demonstrated good protective effect on ram semen collected during the non-breeding season and stored at 50C. The type of extender had no influence on sperm motility and viability until 48 h of storage, while the time of storage significantly (P<0.05) affected the semen parameters.

Резюме: Влияние на сперморазредители съдържащи глицерол и яйчен жълтък върху подвижността и жизнеспособността на сперматозоидите в охладена сперма от коч, получена през неразмножителен сезон.

Целта на това проучване беше да се прецени влиянието на Трис-базирани сперморазредители, съдържащи глицерол и яйчен жълтък върху подвижността и жизнеспособността на сперматозоидите в охладена сперма от коч, получена през неразмножителен сезон. Девет еякулата от три клинично здрави коча в неразмножителен сезон бяха получени чрез метода на изкуствената вагина. Спермата се разреждаше със Стеридил (СТ), Триладил (ТРИ) или Трис-базиран сперморазредител, съдържащ 5% глицерол и 5% яйчен жълтък (ТГГЖ) до крайна концентрация 200x10⁹/ml сперматозоида. Пробите от сперма (n=9) за всеки сперморазредител се съхраняваха при температура 5 0°С за 72 часа. Подвижността и жизнеспособността бяха преценени на час 0, 6, 24, 48 и 72 от съхранението. Резултатите бяха статистически обработени и беше отчетено влиянието на сперморазредителя и времето за съхранение. След 6-ия час от съхранението, първоначалната подвижност и жизнеспособност се понижаваша (P<0.05) за всички сперморазредители, но до 48-ия час значителни разлики между стойностите за един и същи интервал на изследване не бяха установени. На 72-ия час стойностите за СТ и ТГГЖ бяха по-високи (P<0.05), в сравнение с тези за ТРИ, но по-скоро незадоволителни. Увеличеното време за съхранение беше в отрицателна корелация с двата показателя при всички сперморазредители (P<0.05). В заключение, Трис-базирани сперморазредители, съдържащи глицерол и яйчен жълтък, демонстрират добър защитен ефект върху семенната течност от коч, получена през неразмножителен сезон и съхранявана при 5 0°С. Видът на сперморазредителя не оказва влияние върху подвижността и жизнеспособността на сперматозоидите до 48-ия час на съхранение, докато времето за съхранение (P<0.05) влияе значително върху параметрите на спермата.

III. Статии в суплемементи към научни списания в непълнен текст, публикувани в реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация (Scopus и Web of Science)

1. Atanasov, A., Yotov, S., Ilieva, Y., 2015. Reproductive response of Bulgarian Murrah buffaloes with postpartum anestrus after progesterone and prostaglandin based

treatment during breeding season. *Reproduction in Domestic Animals*, Vol. 50 (Suppl.3), SI, WS 6.2; 29-30. (Web of science) IF 2015 = 1.21

Abstract: Purpose: Aim of the present study was to compare the results from two hormonal treatments in Bulgarian Murrah buffaloes suffering from postpartum anestrus treated during the breeding season. Methods: Nineteen animals without detected estrus 156±10 days after calving were submitted to two transrectal ultrasound examinations 10 days apart. Based on the ovarian structures, two groups were formed – Group I (n = 10) with no corpus luteum and Group II (n = 9) with a corpus luteum, treated respectively with a progesterone or prostaglandin based protocol. Clinical estrus signs of the treated animals were determined and immediately after that a double artificial insemination (AI) 8 h apart was done. Two weeks later, two fertile bulls were introduced into both groups. Pregnancy rates after either AI or natural mating were calculated on the basis of the ultrasonographic detection of the foetus or embryo 70 days after AI. Results: A pre-ovulatory follicle at the day of AI was detected in a similar percentage of buffaloes in Group I (80%) and Group II (100%) (p = 0.17). The results regarding the clinical estrus signs in Group I and II were 90% and 88.9% (p = 0.89). The pregnancy rates in both groups after AI were (50% vs. 44.4%; p = 0.79) and after natural mating were (0% vs. 33.3%; p = 0.05). Conclusions: The combination of the ultrasonographic assessment of ovarian function and the use of specific hormonal protocols could be an adequate option for induction of estrus and fertilization in buffaloes with postpartum anestrus.

Резюме: Репродуктивен отговор на биволици от породата Българска Мурра със следродилен анеструс след прогестерон и простагландин базирано третиране през размножителен сезон.

Цел: Целта на настоящото проучване беше да се сравнят резултатите от два вида хормонално лечение на биволици от породата Българска Мурра със следродилен анеструс, приложено през размножителен сезон. Методи: Деветнадесет животни без открит еструс до 156±10 дни след отелване бяха подложени на две трансректални ултразвукови изследвания с разстояние 10 дни. Въз основа на структурите в яйчниците бяха формирани две групи - група I (n=10) без жълто тяло и група II (n=9) с жълто тяло в яйчниците, третирани съответно с протокол на базата на прогестерон или простагландин. Определяха се клиничните признаци на еструс при третираните животни и веднага след това се извършваше двукратно изкуствено осеменяване (ИО) през 8 часа. Две седмици по-късно по два фертилни бика се въвеждаха в двете групи. Стойността на бременността след ИО или покриване от бик се изчисляваше на база ултразвуково наблюдение на плод или ембрион 70 дни след изкуственото осеменяване. Резултати: Предовулаторен фоликул в деня на изкуственото осеменяване беше установен при сходен процент биволици в група I (80%) и група II (100%) (p=0.17). Резултатите по отношение на проява на клинични признаци на еструс в I и II група, бяха съответно 90% и 88.9% (p=0.89). Стойността на бременността след изкуствено осеменяване в двете групи беше 50% срещу 44.4% (p=0.79), след покриване от бик 0% срещу 33.3% (p=0.05). Изводи: Комбинацията от ултразвукова преценка на функционалното състояние на яйчниците и използването на специфични хормонални протоколи може да бъде адекватен вариант за индуциране на еструс и заплождане при биволи със следродилен анеструс.

2. Yotov, S., Atanasov, A., 2015. Dominant follicles development and estradiol-17 beta concentrations in non-ovulating and ovulating postpartum Bulgarian Murrah buffaloes. *Reproduction in Domestic Animals*, 50, 29-29. (Web of science) IF 2015 = 1.283

Abstract: This study was designed to evaluate the dominant follicles development and the estradiol-17b concentrations in non-ovulating and ovulating postpartum buffaloes. Sixteen Bulgarian Murrah buffaloes were examined by ultrasound from the 1st postpartum day until Day 50, 3 days apart. The follicular diameters and the ovulations were recorded. The animals were allocated into two groups: I (n = 6) nonovulating and II (n = 10) ovulating. Serum estradiol-17b levels on the days for dominant follicle (DF) registration were measured by ELISA and the results were statistically processed. The mean intervals between calving and first DF detection differed significantly (p < 0.05) between the groups, while the mean intervals between registered DFs from two successive waves were comparable. The mean follicular diameters for the same category follicles in both groups were similar. Different estradiol-17b levels (p < 0.05) for the first DF between ovulating and non-ovulating buffaloes were determined. The cumulative percentages of buffaloes with firstly detected DF and ovulating animals correlated positively (r≥0.84; p < 0.05) to postpartum days. In conclusion, nonovulating and ovulating postpartum Bulgarian Murrah buffaloes showed differences in the development of the first dominant follicle and estradiol-17b concentrations during the time of dominant follicles detection.

Резюме: Развитие на доминантния фоликул и концентрация на естрадиол-17b при овулирали и неовулирали биволици от породата Българска Мурра през следродилния период.

Целта на настоящото проучване беше да се определи развитието на доминантните фоликули и да се определи концентрацията на естрадиол-17b при овулирали и неовулирали биволици през следродилния период. Шестнайсет биволици от породата Българска Мурра бяха ехографски изследвани от 1ви до 50и ден след раждането, през интервал от 3 дни. Бяха определяни фоликулните диаметри и броя на овулациите. Животните бяха разделени на две групи: I (n = 6) неовулирали и II (n = 10) овулирали. Серумните

концентрации на естрадиол-17 β при регистрация на доминантен фоликул (ДФ) бяха измерени с помощта на ELISA и резултатите бяха обработени статистически. Средният интервал от раждането до регистрацията на първия ДФ се различаваше ($p < 0.05$) достоверно между групите, докато средния интервал между регистрацията на доминантните фоликули между две последователни вълни бяха подобни. Средните диаметри за същата категория фоликули при двете групи бяха подобни. Бяха отчетени различни серумни концентрации на естрадиол-17 β ($p < 0.05$) за първия ДФ между овулирали и неовулирали биволици. Кумулативните проценти на биволици с първоначално установен ДФ и овулирали животни корелираше позитивно ($r \geq 0.84$; $p < 0.05$) с дните в следродилния период. В заключение неовулиралите и овулиралите в следродилния период биволици от породата Българска Мурра се различават в развитието на първия доминантен фоликул и концентрацията естрадиол-17 β в момента на установяване на ДФ.

3. S Yotov, A Atanasov, Y Plieva 2016. Evaluation of the pregnancy status in Bulgarian Murrah buffaloes after hormonal treatment during the early postpartum period. Reproduction in Domestic Animals, Vol. 51, (Suppl. 2), SI, P 265; 152.

(Web of science) IF 2016 = 1.40

Abstract: The study was designed to evaluate the pregnancy status in Bulgarian Murrah buffaloes after hormonal treatment during the early postpartum period. The experiment was carried out with 30 clinically healthy multiparous buffaloes, during breeding season, housed in the same management. The calves were separated from the dams immediately after parturition. The animals were randomly allocated in three groups: group I (non treated; $n = 10$); group II ($n = 10$) received 100 μg GnRH on day 14 and 25 mg PGF 2 α (Dinoprost) on day 21 postpartum and group III ($n=10$) injected with GnRH- PGF 2 α - PGF 2 α with the above mentioned doses on days, 14, 21 and 32 postpartum, respectively. Fertile bulls remained in the first group permanently, while in the treated groups they were introduced after the last prostaglandin injection. Ultrasound pregnancy check was performed monthly until month six after calving. The results were processed by correlation analysis and statistical test for comparing the differences between proportions. At the first time pregnancy was registered in the hormonal treated groups II and III (30% and 20%) after the first and in the control animals (10%) after the second postpartum month. The cumulative percentages of pregnant buffaloes correlated positively ($r \geq 0.96$; $p < 0.05$) to postpartum days. The final ultrasound exams showed more pregnancies (60% and 70%) in group II and group III than in group I (30%). Significant difference ($p < 0.05$) between the pregnancy results for groups I and III was also determined. In conclusion, the pregnancy status in Bulgarian Murrah buffaloes could be improved by the used hormonal treatments during the early postpartum period.

Резюме: Оценка на състоянието на бременността при биволици от породата Българска Мурра след хормонална терапия през ранния следродилен период.

Изследването беше предназначено да прецени състоянието на бременността при биволици от породата Българска Мурра след хормонално третиране през ранния следродилен период. Експериментът беше проведен с 30 клинично здрави многограждали биволици, през размножителен сезон, отглеждани при еднаква технология. Телетата бяха отделени от майките веднага след раждането. Животните бяха разпределени на случаен принцип в три групи: група I (нетретирани; $n=10$); група II ($n=10$) третирани с GnRH 100 μg на 14 ден и PGF2 α (Dinoprost) 25 mg на 21 ден след раждане и група III ($n=10$), инжектирана с GnRH-PGF2 α -PGF2 α в гореспоменатите дози на 14-ти, 21-ви и 32-ри ден след раждане. Фертилни бикове престояваха в първата група за постоянно, докато в третираните групи бяха въведени след последната инжекция на простагландин. Ултразвукова проверка за бременност се извършваше ежемесечно до шестия месец след отелването. Резултатите бяха обработени чрез корелационен анализ и статистически метод за сравняване на разлики между пропорции. За първи път бременност беше регистрирана в хормонално третирани групи II и III (30% и 20%) след първия месец, а при контролните животни (10%) след втория месец на раждането. Кумулативният процент на бременни биволици беше в положителна корелация ($r \geq 0.96$; $p < 0.05$) с дните след раждане. Последните ултразвукови изследвания показаха повече бременности (60% и 70%) във II и III група, отколкото в I група (30%). Установена беше и значителна разлика ($p < 0.05$) между резултатите от диагностика на бременността за I и III група. В заключение, състоянието на бременността при биволици от породата Българска Мурра може да се подобри чрез използваните хормонални протоколи, приложени в ранния следродилен период.

4. Atanasov, A., Antonov, A., Yotov, S., Zapryanova, A., 2017. True vaginal prolapse with sub-vaginal retroflexion of the bladder and uterus in a 45-day pregnant dog. Reproduction in Domestic Animals, Vol. 52, (Suppl. S3), SI, P 9: 68-69.

(Web of science) IF 2017 = 1.422

Abstract: True vaginal prolapse in a bitch is a very rare condition. Most frequently it is seen near parturition when progesterone declines and estrogens increase. A 3-year-old female Chou Chou dog was presented with a history of progressively enlarged protruding mass from the vulva. Rectal temperature, heart rate, respiratory rate, blood and serum biochemistry profiles were within normal limits. Clinical examination revealed prolapsed mass with dark-red colored, congested and edematous walls. Bladder and uterus failed to be visualized by abdominal ultrasound examination and ultrasonography of the prolapsed vagina was done. It revealed anechoic, urine containing bladder and next to it hyperechoic skeletons of two dead fetuses without any amniotic fluid. A diagnosis of true vaginal prolapse with retroflexion of the bladder and the uterus was made. Exploratory laparotomy displayed cranial part of stretched uterine horns, without visualization of the uterine body, cervix and bladder. By gentle pressure of the prolapsed vagina outside and gentle pulling of the uterine horns inside, uterus and bladder were repositioned into the abdominal cavity. Ovariohysterectomy was performed and cervicopexy was done to prevent relapse of the vaginal prolapse. The dog recovered completely and recurrence of the prolapse was not observed. As a complication of vaginal prolapse in the bitch, other organs, such as bladder, uterus and part of the colon, may be retroflexed sub-vaginally.

Резюме: Истинско изпадане на влагалището със субвагинална ретрофлексия на пикочния мехур и матката при кучка на 45 дневна бременност.

Истинското изпадане на влагалището при кучка е много рядко състояние. Най-често се наблюдава близо до раждането, когато нивото на прогестерон намалява и естрогените се повишават. Представеният случай беше при 3-годишно женско куче Chou-Chou с прогресивно увеличена и провиснала маса от вулвата. Ректалната температура, сърдечната честота, дихателната честота, хематологичните и биохимичните показатели бяха в нормални граници. Клиничното изследване установи пролабирала маса с тъмночервен цвят, удебелени и едематизирани стени. Пикочният мехур и матката не се визуализираха при трансабдоминален ултразвуков преглед и беше направена ултрасонография на пролабиралата част от влагалището. Установени бяха анехогенен, пикочен мехур, съдържащ урина и до него хиперехогенни скелети на два мъртви плода, без наличие на околоплодна течност. Поставена беше диагнозата - Истинско изпадане на влагалището с ретрофлексия на пикочния мехур и матката. При диагностичната лапаротомия се виждаше краниалната част на изпънатите маточни рога, без визуализация на маточното тяло, шийката на матката и пикочния мехур. Чрез лек натиск на пролабиралата част от вагината отвън и внимателно издърпване на маточните рога отвътре, матката и пикочния мехур бяха репонирани в коремната кухина. Извършена беше овариохистеректомия и цервикопексия, за да се предотврати рецидив. Кучето се възстанови напълно и повторно изпадане на влагалището не беше наблюдавано. Усложнение при изпадане на влагалището при кучето може да бъде ретрофлексия на други органи, като пикочен мехур, матка и част от дебелото черво.

VI. Статии в сборници от конгреси и конференции в непълен текст, публикувани в нереферирани списания с научно рецензиране или публикувани в редактирани колективни томове

1. Atanasov, A., Yotov, S., 2015. Reproductive response of Bulgarian Murrah buffaloes with ovarian inactivity after progesterone-based treatment during breeding and non-breeding season. Book of Abstracts from 8th Asian Buffalo Congress, April 21-25, Istanbul, Turkey, P 149.

Abstract: The aim of the present study was to monitor and compare the reproductive response of Bulgarian Murrah buffaloes with ovarian inactivity after progesterone based treatment during breeding and non-breeding season. The experiment was carried out on 64 buffalo cows with ovarian inactivity without estrus behaviour expression until Day 120 post partum. All animals were submitted to two transrectal ultrasound examinations, 10 days apart. During the second examination blood samples were collected and serum progesterone concentration was determined. A criterion for ovarian inactivity was absence of the both large ($\geq 10\text{mm}$) follicle and corpus luteum into one of the ovaries and serum progesterone $< 0.5\text{ ng/ml}$. The buffaloes were randomly divided into two groups - Group I ($n=31$) treated from September to November (breeding season) and Group II ($n=33$) treated from March to May (non breeding season). The hormonal protocol included insertion of intravaginal device PRID on Day 0 (second ultrasonography), intramuscular injection of $500\mu\text{g}$ $\text{PGF}_2\alpha$ and 500 IU PMSG on Day 7 (device withdrawal), and 1500 IU hCG on Day 9. A double artificial insemination (AI) was performed at 16 and 25 hour after the hCG injection. The mean diameter of the largest follicle was recorded on Day 0 and Day of AI. Additionally, the percentage of the buffaloes with clinical estrus signs was determined immediately before the first

insemination. Ovulation was accounted by registration of a corpus luteum and progesterone >0.5 ng/ml seven days after the AI.

Ultrasound pregnancy check was carried out 35 days after the AI. The mean diameters of the largest follicle in Group I (6.8 ± 2.1 mm) and Group II (5.9 ± 2.3 mm) did not differ significantly ($P=0.09$) at Day 0. Non significant difference ($P=0.18$) was also registered between the mean diameters of the ovulatory follicle (13.2 ± 2 mm vs. 14.1 ± 3.1 mm) at Day of the AI. Similar results were observed regarding the buffaloes with clinical estrus signs (74.2% vs. 75.8%; $P=0.43$) and the ovulations (77.4% vs. 72.7%; $P=0.35$). The pregnancy rate during breeding season (51.6%) tended to be higher than obtained once (45.5%) in non-breeding season. The current data shows that applied progesterone-based protocol provides adequate reproductive response, ovulation and pregnancy rate in Bulgarian Murrah buffaloes with ovarian inactivity. It could be used successfully during breeding and non breeding season.

Резюме: Репродуктивен отговор на биволицы от породата Българска Мурра с неактивни яйчници след приложение на прогестерон базиран протокол през размножителен и нерамножителен сезон.

Цел: Целта на това проучване беше да се проследи и сравни репродуктивния отговор на биволицы от породата Българска Мурра с неактивни яйчници след прогестерон базирано третиране по време на размножителен и нерамножителен сезон. Експериментът беше проведен с 64 биволицы с неактивни яйчници без клинична проява на еструс до 120-ия ден след раждане. Всички животни бяха подложени на два трансректални ултразвукови прегледа през 10 дни. По време на второто изследване се получаваха кръвни проби и се определяше серумната концентрация на прогестерон. Критерии за неактивни яйчници беше отсъствието на големи (≥ 10 mm) фоликули и жълто тяло в един от яйчниците при двете последователни изследвания и серумен прогестерон <0.5 ng/ml. Биволиците бяха разделени на случаен принцип в две групи - група I ($n=31$), третирани от септември до ноември (размножителен сезон) и група II ($n=33$), третирани от март до май (нерамножителен сезон). Хормоналният протокол включваше поставяне на интравагинално устройство ПРИД на ден 0 (втора ултрасонография), интрамускулно инжектиране на PGF2 α 500 μ g и PMSG 500 IU на ден 7 (изваждане на устройството) и hCG 1500 IU на ден 9. Двукратно изкуствено осеменяване (ИО) беше извършено на 16-ия и 25-ия час след инжектирането на hCG. Средният диаметър на най-големия фоликул беше отчитан в ден 0 и в деня на изкуствено осеменяване. Освен това, непосредствено преди първото осеменяване беше определен процент на биволиците с клинични признаци на еструс. Овулацията се отчиташе чрез регистрация на жълто тяло и прогестерон >0.5 ng/ml на седмия ден след изкуствено осеменяване. Ултразвукова проверка за бременност беше извършена 35 дни след ИО. Средните диаметри на най-големите фоликули в група I (6.8 ± 2.1 mm) и група II (5.9 ± 2.3 mm) не се различаваха значително ($P=0.09$) на ден 0. Не беше регистрирана и значителна разлика ($P=0.18$) между средните диаметри на овулаторните фоликули (13.2 ± 2 mm срещу 14.1 ± 3.1 mm) в деня на ИО. Подобни резултати бяха отчетени по отношение на биволиците с клинични признаци на еструс (74.2% срещу 75.8%; $P=0.43$) и овулациите (77.4% срещу 72.7%; $P=0.35$). Стойността на бременността през размножителния сезон (51.6%) беше с тенденция към повишаване, спрямо тази (45.5%) през нерамножителния сезон. Настоящите данни показват, че приложението на прогестерон базиран протокол осигурява адекватни репродуктивен отговор, овулация и стойност на бременността при биволицы от породата Българска Мурра с неактивни яйчници. Той може да се използва успешно през размножителен и нерамножителен сезон.

2. S. Yotov, A. Atanasov, I. Fasulkov, M. Karadaev, A. Antonov & P. Georgiev 2019. Sperm motility and viability of chilled ram semen collected by artificial vagina and electroejaculation during the non-breeding season. Second International Scientific Conference "Veterinary medicine in service of people" October 18-19, Stara Zagora, Bulgaria (On-line).

Abstract: The current study aimed to evaluate motility and viability of chilled ram semen collected by artificial vagina and electroejaculation during the non-breeding season. A total of eighteen ejaculates from six clinically healthy rams in non-breeding season were collected by artificial vagina (AV; $n=9$) and electroejaculation (EE; $n=9$) and submitted to preliminary evaluation. After that all ejaculates were diluted through Tris-based extender containing low concentration (5%) of glycerol and (5%) egg yolk to a final concentration 200×10^6 sperm per ml and stored at 4-5 $^{\circ}$ C for 48 hours. Motility and viability of three semen samples for each ejaculate were evaluated at 0, 6, 24 and 48 h of storage and the means were accepted as a final value. Estimation of motility was carried out by microscopic examination of semen sample using of Motic Image Plus Digital System and viability was assessed by one step eosin-nigrosin staining technique. The results were statistically processed by computer program Statistica, version 7.0 using of the options ANOVA and correlation analysis for determination of the effects of method of collection and time of storage on the semen parameters. The evaluated parameters negatively correlated with the increased time of storage ($r \geq -0.88$; $P < 0.05$). In both methods of semen collection, significant differences ($P < 0.05$) between the values registered at 24 and 48 hour of storage were detected. After the 6th hour of storage,

the sperm motility and viability for the same intervals of evaluation were higher ($P < 0.05$) in semen collected by AV compared to EE method, with values over 60% at 24 h of storage at 4-5°C. In conclusion, the time of storage had a negative effect on sperm motility and viability, irrespective of used method of semen collection. Semen from ram in nonbreeding season collected by artificial vagina and diluted trough abovementioned semen extender demonstrated acceptable motility and viability ($>60\%$) until 24 h after storage at 4-5°C, while semen collected by electroejaculation showed similar values during the first six hours of storage. This data could be useful when ram semen has to be stored for a short time in refrigerator or transported in longer distance.

Резюме: Подвижност и жизнеспособност на сперматозоидите в охладената сперма от коч, получена чрез изкуствена вагина и електроеякулация през неразмножителен сезон.

Настоящото проучване имаше за цел да прецени подвижността и жизнеспособността на сперматозоидите в охладената сперма от коч, получена чрез изкуствена вагина и електроеякулация през неразмножителен сезон. Общо осемнадесет еякулата от шест клинично здрави коча в неразмножителен сезон бяха получени чрез изкуствена вагина (ИБ; $n=9$) и електроеякулация (ЕЕ; $n=9$) и подложени на предварителна преценка. След това, всички еякулати бяха разреждени чрез Трис-базиран сперморазредител, съдържащ ниска концентрация (5%) глицерол и (5%) яйчен жълтък до крайна концентрация 200×10^6 сперматозоида в ml и се съхраняваха при температура 4-5 °C в продължение на 48 часа. Подвижността и жизнеспособността на три проби сперма от всеки еякулат се преценяха на 0, 6, 24 и 48 часа от съхранението, а средното аритметично се примаше за крайна стойност. Преценката на подвижността се извършваше чрез микроскопско изследване на проба от сперма с помощта на компютърна система Motic Image Plus, а жизнеспособността се преценяше след оцветяване на натривките с еозин-нигрозин едностъпков метод.

Резултатите бяха статистически обработени с компютърна програма Statistica, версия 7.0, като се използваха опциите ANOVA и корелационен анализ за определяне на влиянието на метода на получаване и времето за съхранение върху параметрите на спермата. Изследваните параметри корелираха отрицателно с увеличеното време на съхранение ($r \geq -0.88$; $P < 0.05$). И при двата метода за получаване на сперма бяха открити значителни разлики ($P < 0.05$) между стойностите, регистрирани на 24-ти и 48-ми час от съхранението. След шестия час на съхранение, подвижността и жизнеспособността на сперматозоидите за идентичните интервали бяха по-високи ($P < 0.05$) при сперма, получена чрез метода на ИБ, спрямо ЕЕ, със стойности над 60% на 24-ия час от съхранение при 4-5 °C. В заключение, времето за съхранение има отрицателен ефект върху подвижността и жизнеспособността на сперматозоидите, независимо от използвания метод за получаване на сперма. Спермата от коч в неразмножителен сезон, получена чрез изкуствена вагина и разреждана с горепосочения сперморазредител, показва приемливи подвижност и жизнеспособност ($>60\%$) до 24 часа при съхранение на температура 4-5 °C, докато спермата, получена чрез електроеякулация, показва подобни стойности през първите шест часа на съхранение. Тези данни биха могли да бъдат полезни при съхранение на семенна течност от коч в хладилни условия или при транспортиране на охладена сперма на по-голямо разстояние.

3. Atanasov, A., Antonov, A., Ivanova, B. 2021. Alfaprostol effectively induces estrus in cycling Bulgarian donkeys during breeding season. Abstract book, p.20.

Abstract: Worldwide donkey is a species which is threatened of extinction. In order to be saved and improved different donkey breeds require optimization of the reproductive process. The aim of the present study was to investigate the effectiveness of synthetic prostaglandin (PGF $_{2\alpha}$) for estrus induction in cycling Bulgarian donkeys during breeding season. The study was conducted from February to July 2020 with six Bulgarian local breed jennies. The ovarian activity was monitored daily by trans-rectal ultrasonography and 20 cycles (3 cycles in four and 4 cycles in two donkeys) were tracked. On the 7th day after detected ovulation each animal was injected with 3 mg alfaprostol intramuscularly. Immediately before and for the next seven days after the treatment blood samples for P4 analysis were collected. Clinical observation for side effects up to two hours after drug administration was applied. Signs of behavioral estrus were registered daily by fertile donkey jackass. Ovarian dynamics and post-treatment ovulation were detected ultrasonographically. Statistical analysis was performed by ANOVA. None of the treated jennies showed any signs of depression, restlessness, and abdominal pain. Blood P4 levels significantly ($p < 0.01$) decreased (34.3 ± 12.8 vs. 5.7 ± 1.8 ng/ml) within 24 hours after drug application. All animals exhibited behavioral estrus and ovulation on the 5.8 ± 0.7 and 9.8 ± 1.6 days after the treatment respectively. Mean diameter of post-treatment ovulation follicle was 3.75 ± 0.43 cm. Our findings indicate that synthetic analog of PGF $_{2\alpha}$ alfaprostol could be used successfully to induce estrus and ovulation in Bulgarian local breed donkey.

Резюме: Алфаппростол ефективно индуцира еструс при циклиращи местни породи магараци през размножителен сезон.

В световен мащаб магарето е вид, застрашен от изчезване. За да се съхранят и подобрят различните породи магарета е необходимо оптимизиране на репродуктивния процес. Целта на настоящото проучване беше да се установи ефективността на синтетичните простагландини (PGF $_{2\alpha}$) за индуциране на еструс при циклиращи местни магарета през размножителен сезон. Изследването беше проведено в периода от м.

февруари до м. юли 2020г. с шест женски магарици от местна порода. Овариалната активност беше проследена ежедневно през 20 цикъла (3 цикъла при четири и 4 цикъла при две магарици) чрез трансректална ехография. На 7ия ден след установена овулация всяко животно беше инжектирано с 3 mg alfaprostol интрамускулно. Непосредствено преди и за следващите 7 дни след третирането бяха получавани кръвни проби за анализ на прогестерон (P4). Също така беше направено и клинично изследване за проява на странични ефекти в рамките на 2 часа след третирането. Проява на клинични признаци на еструс бяха регистрирани ежедневно чрез фертилен мъжки магарешки жребец. Овариалната динамика и настъпилата след третирането овулация бяха наблюдавани ехографски. Статистическият анализ беше направен чрез ANOVA. Никое от третираните животни не прояви признаци на депресия, безпокойство и абдоминална болка. Кръвните концентрации на P4 достоверно ($p < 0.01$) се понижиха (34.3 ± 12.8 срещу 5.7 ± 1.8 ng/ml) в рамките на 24 часа след прилагането на медикамента. Всички магарици проявиха клинични признаци на еструс и овулация съответно на 5.8 ± 0.7 и 9.8 ± 1.6 ден след третирането. Средният диаметър на предовулаторния фоликул беше 3.75 ± 0.43 cm. Нашите данни показват, че синтетичния аналог на PGF2 α alfaprostol може да бъде използван успешно за индуциране на еструс и овулация при местни породи магарици.

10.10.2022г.
Стара Загора

Подпис:



/гл. ас. Анатоли Атанасов/