

Wpływ zatrzymania łożyska i endometritis na wyniki uzyskiwania zarodków u krów

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI, JANUSZ ZBYLUT, KRZYSZTOF URBANIAK*

Pracownia Biotechniki Rozrodu Zwierząt Państwowego Instytutu Weterynaryjnego Oddział w Bydgoszczy,
Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

*Prywatna Praktyka Weterynaryjna, ul. Tyrwacka 25/6, 61-616 Poznań

Jaśkowski J. M., Zbylut J., Urbaniak K.

The influence of delivery and post-partum disturbances on the results of embryo production in donor cows

Summary

This investigation aimed at ascertaining the influence of *retentio secundinarum* (r.s.) and *post partum endometritis* (p.e.) on the results of embryo production in donor cows. The following criteria were employed in selecting the cows used in the experiment:

1) before beginning *cyclus synchronization* the cows should be at least 50-60 days after parturition. They must be clinically health and have a regular sexual cycle, 2) all cows should be flushed at least twice during one service period. In this way 26 animals were selected out of 247 cows flushed between 1996-98. The selected cows were divided into three groups. The first of them ($n = 5$) contained cows with r.s.; the second one ($n = 6$) cows with p.e. The third group i.e. cows with an undisturbed postpartum period ($n = 15$) was the control group. The animals were superovulated with i.m. inj. of FSH (Ovagen, ICP), inseminated artificially and flushed non surgically on the 7th day after coming on heat. The total number of transferable embryos collected from cows with r.s. was 1.0 whereas in cows with p.e. and in the control group 3.73 ($p \leq 0,05$) and 4.06 ($p \leq 0,01$) respectively. There were no differences between all groups regarding the quality of embryos. The obtained results suggest that one of the reasons for poor embryo production in donor cows may be disturbances in their fertility cycle due to post partum complications.

Keywords: *retentio secundinarum*, endometritis, superovulation, cows, embryo production, embryo quality.

Krowa przeznaczona na dawczynię zarodków powinna być wolna od chorób zaraźliwych, zdrowa klinicznie oraz wykazywać regularne cykle rujowe (6, 10). Pojęcie zdrowia obejmuje także wolny od komplikacji przebieg porodu i okresu poporodowego (5).

W warunkach krajowych, dysponując wartościową samicą, hodowcy w pogoni za szybkim uzyskaniem cennego potomstwa często świadomie ignorują ewentualne negatywne konsekwencje używania jako dawczyń zarodków krów, wykazujących zaburzenia porodowe i poporodowe. Tymczasem jak wynika z licznych publikacji krowy z zatrzymaniem łożyska cechuje istotnie niższa płodność (3, 7). Podobnie pogorszenie wskaźników rozrodu notowano u samic dotkniętych zapaleniem błony śluzowej macicy (2, 3). Równocześnie zarówno w piśmiennictwie krajowym jak i zagranicznym brak jest danych o skali wpływu tych schorzeń na efektywność superowulacji u krów dawczyń zarodków.

Celem badań było określenie wpływu zatrzymania łożyska oraz zapalenia błony śluzowej macicy na wyniki pozyskiwania zarodków u krów dawczyń.

Materiał i metody

Badane zwierzęta wyselekcjonowano spośród 247 krów dawczyń zarodków poddawanych superowulacji i zabiegom pozyskiwania zarodków w gospodarstwie A, w latach 1996-98. Warunkiem zaliczenia krów do jednej z trzech grup było: a) przynajmniej dwukrotne przeprowadzenie zabiegu pozyskiwania zarodków podczas konkretnego cyklu reprodukcyjnego, b) komplikacje porodowe lub poporodowe w postaci zatrzymania błon płodowych lub różnych postaci zapalenia błony śluzowej macicy po wycieleniu. W ten sposób wyodrębniono 26 krów, z których do grupy z zatrzymaniem błon płodowych zaliczono 5 krów (grupa I), do grupy z powikłanym przebiegiem okresu poporodowego, tzn. krów wykazujących podczas pierwszych 30 dni po wycieleniu śluzowo ropne lub ropne zapalenie błony śluzowej macicy – 6 krów (grupa II), pozostałe 15 natomiast do grupy o niepowikłanym przebiegu porodu i okresu poporodowego (grupa III – kontrolna). Przypadki *endometritis* leczono, podając domacicznie preparaty antybiotykowe. Zatrzymane łożysko odcinano manualnie, jamę macicy zaś zaopatrywano antybiotykami.

Wszystkie krowy dawczynie w stadzie A podlegały następującemu programowi hodowlanemu. Około 50-60 dnia po wycieleniu wszystkie samice wytypowane do transferu były badane klinicznie. Do transferu przeznaczano wyłącznie te samice, które były zdrowe, zaś jajniki ich wykazywały aktywność (obecność struktur ciała żółtego). Ruję u wszystkich dawczyń synchronizowano przy użyciu dwukrotnej i.m. iniekcji naturalnej prostaglandyny, zawartej w 5,0 ml preparatu Dinolitic (Pharmacia-Upjohn), podawanej i.m. w 14 dniowym odstępie. W 9-12 dniu cyklu rujowego następującego po drugiej iniekcji prostaglandyny, rozpoczynano superowulację podając domięśniowo rano i wieczorem przez cztery kolejne dni malejące dawki 16,7-20 ml preparatu Ovagen (ICP), zawierającego wysoko oczyszczony FSH. Ruję prowokowano dwukrotną iniekcją preparatu Dinolitic aplikowanego dwukrotnie (rano i wieczorem) w trzecim dniu podawania FSH. Samice unasieniano dwukrotnie pojedynczą dawką nasienia mrożonego, wprowadzając pierwszą z nich 12 godzin po wystąpieniu objawów rui. Zarodki pozyskiwano w 7 dniu po rui metodą bezkrwawą, a następnie pod mikroskopem stereoskopowym wyszukiwano zarodki. Wszystkie poddawano klasyfikacji według powszechnie przyjętej pięciopunktowej skali (1, 9).

Jeśli dawczyni kryteriów tych nie spełniały termin przygotowania do superowulacji opóźniano. Każda dawczyni była poddawana następnej superowulacji z zachowaniem dwumiesięcznego odstępu pomiędzy kolejnymi zabiegami pozyskiwania zarodków.

Wyniki oceniono statystycznie wykorzystując do oceny istotności różnic test t-Studenta.

Wyniki i omówienie

W tab. 1 zestawiono wyniki superowulacji w poszczególnych grupach krow podczas kolejnych zabiegów uzyskiwania zarodków. Przeciętny okres od wycielenia do zabiegu pozyskiwania zarodków wyniósł w grupach I-III odp. 124,2, 112,7 oraz 101 dni. Średnia liczba zarodków i komórek jajowych uzyskanych podczas pierwszego zabiegu pozyskiwania zarodków wynosiła od 2,42 do 4,81 i była najniższa w grupie krow dawczyń wykazujących po wycieleniu zatrzymanie błon płodowych. W tej grupie krow średnia liczba zarodków przydatnych do transferu wyniosła 2,0 podczas gdy w grupie II i III odp. 3,5 i 2,8. Różnica pomiędzy dawczyniami grupy I w odniesieniu do liczby zarodków przydatnych do transferu a pozostałymi grupami utrzymywała się także po drugim zabiegu wylukowania macicy. Przykładowo od krow grupy pierwszej pozyskano średnio 1,22 zarodka natomiast od samic grup II i III odp. 3,2 i 2,6. Różnice te nie były istotne statystycznie ($p > 0,05$).

Po drugim zabiegu uzyskiwania zarodków z grupy I wykluczono 2 samice z powodu torbieli jajnikowych, w grupie kontrolnej 4, – dwie z powodów gospodarczych, dwie niedostatecznej reakcji jajników na gonadotropiny. Trzeci zabieg pozyskiwania zarodków przyniósł dalsze zwiększenie różnic pomiędzy porównywanymi grupami zwierząt. Podczas gdy w grupie krow z zatrzymaniem łożyska pozyskiwano przeciętnie 1,33

zarodki i komórki jajowe ogółem, z czego zaledwie 0,67 zarodków nadawało się do transferu, w grupie II i kontrolnej uzyskano odp. 4,31 i 6,74, z czego 2,8 i 4,5 nadawało się do transferu ($p > 0,05$).

Po raz czwarty zarodki pozyskiwano od 2 spośród 5 krow w grupie I, 2 z 6 w grupie II oraz 7 z 15 w grupie III. Przyczynami rezygnacji z pozyskiwania zarodków we wszystkich grupach była niedostateczna reakcja na hormony gonadotropowe. Jak wynika z tabeli tendencja uzyskiwania mniejszej liczby zarodków w grupie krow z zatrzymaniem błon płodowych utrzymała się. Nadal jednak różnice pomiędzy poszczególnymi grupami nie były istotne statystycznie ($p > 0,05$).

Uzupełniając dane tabeli należy dodać, że przeciętny okres od wycielenia do zabiegu pozyskiwania zarodków wyniósł w grupach I-III odp. 124,2, 112,7 oraz 101 dni. Z danych tych wynika, że pierwszy zabieg pozyskiwania zarodków w grupach krow z zatrzymaniem błon płodowych oraz różnymi postaciami zapalenia błony śluzowej macicy przeprowadzano odp. 22 i 11 dni później niż w grupie kontrolnej. Fakt ten nie jest zaskoczeniem i jest bezpośrednim efektem opóźnienia decyzji o rozpoczęciu synchronizacji rui oraz superowulacji, wskutek braku zadowalającego stanu zdrowotnego samicy około 2 miesiące po wycieleniu. Jak widać, przebycie zatrzymania błon płodowych względnie zapalenia macicy, nie pozostawało bez wpływu na termin przeprowadzania pierwszego po wycieleniu zabiegu pozyskiwania zarodków. Zakładając hipotetyczną sytuację, w której każda z dawczyń poddawana jest tylko jednemu zabiegowi superowulacji, następnie zaś jest zacielana, trudno nie doceniać opóźnienia się terminu pozyskiwania zarodków oraz tego konsekwencji w postaci przedłużania się okresu poporodowego.

W przeprowadzonych badaniach, mimo pewnych wyraźnych tendencji nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy liczbą pozyskiwanych zarodków i komórek jajowych ogółem oraz zarodków przydatnych do transferu w porównywanych grupach krow i kolejnych następujących po sobie zabiegach pozyskiwania zarodków. W związku z tym w tab. 2 dane odnośnie do liczby zarodków przydatnych do transferu pozyskiwanych od krow z zatrzymaniem błon płodowych lub zapaleniem błony śluzowej macicy podczas trzech następujących po sobie w dwumiesięcznych odstępach zabiegach pozyskiwania zarodków zestawiono sumarycznie. Jak wynika z danych tabeli od krowy z zatrzymaniem błon płodowych pozyskano przeciętnie 1 zarodek nadający się do transferu, tj. odp. średnio 2,73 i 3,06 ($p < 0,05$ i $p < 0,01$) zarodka mniej niż od krow z zapaleniem błony śluzowej macicy oraz krow z nie powikłanym przebiegiem okresu poporodowego. Znaczne różnice zanotowano także w odniesieniu do liczby zarodków przydatnych do transferu, których jakość oceniono jako dobrą. W grupie I, spośród 9 zarodków za dobre jakościowo uznano 7, tj. średnio 0,77 zarodka, w grupie II i kontrolnej nato-

Tab. 1. Efektywność superowulacji u krów z zatrzymaniem błon płodowych oraz zapaleniem błony śluzowej macicy podczas czterech kolejnych zabiegów pozyskiwania zarodków ($x \pm s$)

Grupa krów	Kolejność pozyskiwania zarodków	Liczba krów	Przeciętna liczba ciałek żółtych	Średnia liczba zarodków i komórek jajowych ogółem	Średnia liczba zarodków przydatnych do transferu
I	I	5	5,62 ± 1,21	2,42 ± 0,51	2,0 ± 0,40
	II	5	5,0 ± 1,41	3,44 ± 0,74	1,22 ± 0,72
	III	3	4,34 ± 1,18	1,33 ± 0,58	0,67 ± 0,58
	IV	2	4,54 ± 1,23	0,33 ± 0,15	0,33 ± 0,15
II	I	6	6,0 ± 1,76	4,81 ± 1,92	3,5 ± 1,48
	II	6	11,51 ± 4,0	4,0 ± 1,86	3,2 ± 1,53
	III	6	9,0 ± 0,72	4,31 ± 2,46	2,8 ± 0,81
	IV	2	10,54 ± 1,0	12,0 ± 1,42	5,5 ± 2,19
Kontrola	I	15	7,22 ± 0,68	3,80 ± 1,13	2,6 ± 0,83
	II	15	8,1 ± 1,28	6,40 ± 1,77	2,67 ± 0,77
	III	11	7,61 ± 1,34	6,74 ± 1,75	4,5 ± 1,30
	IV	7	6,63 ± 0,83	6,93 ± 2,15	4,0 ± 1,87

Tab. 2. Liczba zarodków przydatnych do transferu pozyskiwana od krów z zatrzymaniem błon płodowych oraz poporodowym zapaleniem błony śluzowej macicy podczas trzech kolejno następujących zabiegów pozyskiwania zarodków

Grupa krów	Liczba krów	Liczba przeprowadzonych superowulacji ogółem	Liczba zarodków			
			przydatnych ogółem n	przydatnych ogółem $\bar{x} \pm s$	jakościowo dobrych n	jakościowo dobrych i bardzo dobrych $\bar{x} \pm s$
I	3	9	9	1,0 ± 0,35 ^a	7	0,67 ± 0,48
II	5	15	56	3,73 ± 0,90 ^b	35	2,73 ± 0,74
III	11	33	134	4,06 ± 0,77 ^c	99	3,0 ± 0,69
Razem	19	57	199	3,49 ± 0,81	141	2,47 ± 0,74

Objaśnienia: ^{ab} – $p < 0,05$, ^{ac} – $p < 0,01$.

miast średnio 2,73 i 3 zarodki ($p > 0,05$). Biorąc jednak pod uwagę liczbę zarodków dobrych jakościowo w odniesieniu do liczby zarodków przydatnych do transferu różnice pomiędzy poszczególnymi grupami były małe. I tak w grupie I odsetek zarodków dobrych jakościowo pośród wszystkich uznanych za przydatne do transferu wyniósł 77,8% podczas gdy w grupie II i kontrolnej odpowiednio średnio 62,5 oraz 73,8%.

Powyższe wyniki wskazują, że liczba zarodków pozyskiwanych od krów z zatrzymaniem błon płodowych jest istotnie niższa niż u krów z zapaleniem błony

śluzowej macicy oraz krów z nie powikłanym przebiegiem okresu poporodowego. Nie stwierdzono natomiast różnic w odniesieniu do liczby jakościowo dobrych zarodków oraz ich odsetka pośród zarodków uznanych za przydatne do transferu. Fakt niekorzystnego wpływu zatrzymania błon płodowych na wyniki superowulacji u krów dawczyń nie jest zaskoczeniem. Bardziej interesujący wydaje się natomiast stosunkowo niewielki wpływ na efektywność superowulacji zapalenia błony śluzowej macicy. Naszym zdaniem brak poważniejszych ujemnych konsekwencji na płod-

ność dawczyń może być efektem odpowiedniego i dostatecznie wczesnego leczenia tej przypadłości. O niekorzystnym wpływie zaburzeń płodności na produkcję zarodków u krów dawczyń donosili także inni autorzy. Przykładowo Fuhrer i wsp. (4) pozyskiwali od krów z jałowością bezobjawową mniejszą liczbę zarodków i komórek jajowych ogółem oraz zarodków przydatnych do transferu. Notowali także istotnie wyższy odsetek zarodków o niedostatecznej jakości.

Niniejsze obserwacje dowodzą z jednej strony znaczenia właściwego wyboru dawczyń zarodków, z drugiej stanowić mogą przyczynek do wyjaśnienia nie zawsze najwyższej efektywności superowulacji u krów w Polsce. Mimo używania do prowokowania polio-wulacji nowych, często drogich generacji preparatów gonadotropowych, uzyskuje się w kraju nadal około 3,5 zarodków przydatnych do transferu od krowy (7, 12). Tymczasem za granicą liczba ta nie jest niższa od pięciu. Rozbieżności te przypisywano u nas niesumien-nemu podawaniu preparatów gonadotropowych, błędami żywieniowym i organizacyjnym, nieterminowe-mu unasięnianiu dawczyń oraz stosowaniem niedosko-niałych preparatów gonadotropowych (7, 11).

Powyższe obserwacje dowodzą celowości dokładnej analizy rodzaju schorzeń przebytych przez dawczynię w okresie poprzedzającym ich przygotowanie do superowulacji i bezwzględne eliminowanie tych, które wykazywały ciężkie postaci zaburzeń porodowych i poporodowych.

Piśmiennictwo

1. Bielański A., Tischner M.: Biotechnologia rozrodu zwierząt gospodarskich. Universitas, Kraków, 1993.
2. Boryczko Z., Furowicz A., Wachowicz R.: Medycyna Wet. 30, 435, 1974.
3. Bostedt H.: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 92, 43, 1979.
4. Fuhrer F., Schellander K., Schleger W.: Wien. Tierärztl. Mschr. 78, 113, 1991.
5. Grunert E., Brechtold M.: Fertilitätsstörungen bei weiblichen Rind. Verlag Paul Parey, Berlin & Hamburg, 1982.
6. Guerin B., Chaffaux St., Marquant Le Guienne B., Allietta M., Thibier M.: Theriogenology 37, 217, 1992.
7. Jaśkowski J. M.: Medycyna Wet. 39, 96, 1983.
8. Jaśkowski J. M.: Mat. Konf. „Aktualne zagadnienia z zakresu embriotransferu, higieny mleka i rozrodu zwierząt domowych” Polanica 1, 95, 1998.
9. Lindner G. M., Wright W. R., Jr.: Theriogenology 20, 407, 1983.
10. Wierzbowski S., Wierchoś E.: Przegl. Hod. 53, 6, 1985.
11. Tischner M., Boryczko Z.: Nowa Weterynaria 2, 78, 1997.
12. Zbylut J., Jaśkowski J. M.: Życie wet. 1999 (w druku).

Adres autora: doc. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski, ul. Św. Trójcy 35/50, 85-224 Bydgoszcz, e-mail: piwetby@webmedia.pl

ORGANON TEKNIKA

Firma ORGANON TEKNIKA

oferuje

immunoenzymatyczne testy
do wykrywania w żywności antygenów

- ✘ SALMONELLA spp.
- ✘ LISTERIA spp.
- ✘ E. COLI O157:H7

oferujemy także

skomputeryzowaną aparaturę umożliwiającą

- ✓ wykonywanie testów
- oraz
- ✓ gromadzenie i analizę wyników

ORGANON TEKNIKA
Oddział w Warszawie
ul. Kubickiego 3 m. 2
02-954 Warszawa
tel. 0-22 642 00 26/27
fax 0-22 642 45 05