

Efektywność superowulacji u jałowic

JANUSZ ZBYLUT, JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI

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

Zbylut J., Jaśkowski J. M.

Effectiveness of superovulation in heifers

Summary

The aim of the study was to estimate the effectiveness of superovulation in heifers. Using multiple analysis statistically, examinations were carried out on 238 superovulated heifers, 11-56 months of age, of the angus, black-white × holstein, hereford, charolaise, limousine and piemontese breeds. The mean number of corpus luteum (NCL), total ova and embryos (TOE), total embryos (TE), embryos suitable for transfer (TRE) were respectively 7.52, 5.3, 4.05 and 3.08. Heifers superovulated with Foltropin-V had more TRE than those receiving Ovagen or Stimufol (3.49 to 2.89 and 3.19; $p < 0.05$). The higher number of collections the higher NCL ($p < 0.01$), TOE ($p < 0.001$), TE ($p < 0.00005$), TRE ($p < 0.001$) and DEG ($p < 0.01$). An important influence on superovulation results was the herd of origin of the cows. More NCL was ascertained in summer ($p < 0.05$), nevertheless in autumn a higher number of degenerated embryos was noted. The breed of heifers only had an influence on the number of corpus luteum. Heifers of the limousine and black-white × hf breed had more corpus luteum than piemontese. The higher the share of the blood of holstein-friesian breed was in the blood of black-white heifers the higher was the number of embryos ($p < 0.001$), embryos suitable for transfer ($p < 0.001$) and degenerated embryos ($p < 0.001$). There was no effect of the age of the heifers or bulls on effectiveness of superovulation, the number of embryos and embryos suitable for transfer, however bulls had a marginal influence on the proportion of TRE/TE ($p < 0.06$).

Keywords: heifers, superovulation, contributing factors.

Czynniki wpływające na wyniki superowulacji opisane zostały szerzej wyłącznie w odniesieniu do krów (1, 10, 15). Mniej uwagi poświęcano jałowicom, dawczyniom zarodków. Tymczasem coraz częściej są one przedmiotem zainteresowania krajowych hodowców (9).

Celem pracy była ocena wyników superowulacji przeprowadzanej u jałowic oraz analiza czynników opisujących jej efektywność.

Materiał i metody

Analizą objęto 238 jałowic w wieku 11-56 miesięcy. Pochodziły one z dziewięciu różnych stad i należały do ras: czarno-białej z dużym dolewem krwi holsztynofryza, limousine, charolaise, piemontese, angus oraz hereford. Superowulację rozpoczynano w 10 dniu po rui podając rano i wieczorem przez cztery kolejne dni jeden z trzech preparatów FSH: – Ovagen (ICP), Foltropin-V (Vetrepharm) lub Stimufol (Rhone-Merieux). Ruję wywoływano podając po 6 i 7 lub 7 i 8 iniekcji odp. 0,5 i 0,25 mg cloprostenolu (Bioestrophan Gorzów Wlkp.). Dawczynię unasienniano dwoma pojedynczymi dawkami mrożonego nasienia, pochodzącego od 38 buhajów. Zarodki pozyskiwano metodą bezkrwawą w 7 dniu po rui.

W analizie statystycznej posłużono się testem regresji wielokrotnej. Efektywność superowulacji określała liczba:

ciałek żółtych (LCL), całkowita liczba zarodków i oocytów (TOE), zarodków ogółem (TE), zarodków przydatnych do transferu (TRE), zdegenerowanych zarodków (DEG) oraz komórek jajowych (UFO).

W analizie uwzględniono wpływ następujących czynników: wieku jałowic (w miesiącach), liczby zabiegów pozyskiwania zarodków przeprowadzonych na konkretnej dawczyni, pory roku, w której dokonywano zabiegu, stada, w którym przebywała dawczyni, rodzaju preparatu zastosowanego do wywoływania superowulacji, buhaja, którego nasienia używano do inseminacji dawczyń, w odniesieniu do rasy mlecznej – wysokości dolewu krwi holsztynofryza.

W przypadku zmiennej nominalnej, której przykładem są buhaje, których nasienia używano do inseminacji dawczyń, zmienne opisujące efektywność superowulacji zbadać przy pomocy analizy wariancji z jedną zmienną międzygrupową. Dodatkowo oceniono wpływ buhajów na ilość zarodków przydatnych do transferu oraz liczby zarodków ogółem (Ti). Obliczenia przeprowadzono z zastosowaniem programu komputerowego Statistica.

Wyniki i omówienie

Przeciętna liczba ciałek żółtych, zarodków i komórek jajowych, zarodków oraz zarodków przydatnych do transferu wynosiła w badanej populacji odp. 7,52;

5,3; 4,05 oraz 3,08. Rezultaty te są zbliżone do uzyskiwanych we wcześniejszych badaniach krajowych i zagranicznych (5, 8).

Tabela 1. przedstawia macierz korelacji między zmiennymi opisującymi efektywność superowulacji. Jak wynika z tabeli pomiędzy większością ocenianych parametrów istniała istotna dodatnia korelacja ($p < 0,05$). Podobne istotne zależności, szczególnie w odniesieniu do liczby zarodków ogółem oraz zarodków przydatnych do transferu notowali inni autorzy (2).

Wszystkie z ocenianych zmiennych – z wyjątkiem wieku jałowic – wywierały określony istotny wpływ na efektywność superowulacji.

Spośród trzech stosowanych do wywoływania superowulacji preparatów gonadotropowych najlepsze rezultaty w odniesieniu do liczby zarodków przydatnych do transferu (TRE) uzyskiwano podając preparat Folltropin ($p < 0,05$). Z wcześniejszych analiz przeprowadzonych na 1193 krowach i jałowicach rasy cb × hf wynika, że po zastosowaniu preparatu Folltropin-V uzyskuje się porównywalną liczbę zarodków jak po podaniu preparatu Ovagen, wyższą jednak niż po iniekcjach preparatu Stimufol (10). Wpływ różnych preparatów FSH na liczbę zarodków przydatnych do transferu ilustruje ryc. 1.

Liczba zabiegów pozyskiwania zarodków przeprowadzanych na dawkach wywierała istotny wpływ na LCL ($p < 0,01$), TOE ($p < 0,001$), TE ($p < 0,001$), TRE ($p < 0,001$) i DEG ($p < 0,01$). Im wyższa była liczba zabiegów wypłukiwania zarodków przeprowadzonych na konkretnej dawczyni, tym wyższa była liczba pozyskiwanych zarodków. Poglądy odnośnie wpływu liczby zabiegów pozyskiwania zarodków na wyniki superowulacji są na ogół podzielone (12, 16). Część autorów nie przypisuje ich liczbie znaczącego wpływu, inni obserwowali stopniowo malejącą jej efektywność wraz ze zwiększaniem liczby zabiegów pozyskiwania zarodków (14, 16). Wydaje się, że notowany w badaniach własnych wzrost efektywności superowulacji przypisywać należy ostrej selekcji, której po pierwszym zabiegu wypłukiwania zarodków poddawane były dawczynie. W jej wyniku dawczynie, od których nie pozyskiwano satysfakcjonującej liczby zarodków eliminowano. Wzrost liczby zarodków pozyskiwanych od wyselekcjonowanych tzw. dobrych dawczyń pośrednio dowodzi także istotnego wpływu indywidualnych cech dawczynie na efektywność superowulacji.

Tab. 1. Macierz korelacji pomiędzy czynnikami opisującymi efektywność superowulacji

| Badany czynnik | LCL | TOE | TE | TRE | DEG | UFO |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| LCL | 1,00 | 0,73* | 0,69* | 0,64* | 0,45* | 0,33* |
| TOE | 0,73* | 1,00* | 0,91* | 0,83* | 0,64* | 0,52* |
| TE | 0,69* | 0,91* | 1,00* | 0,92* | 0,66* | 0,12 |
| TRE | 0,64* | 0,83* | 0,92* | 1,00* | 0,34* | 0,08 |
| DEG | 0,45* | 0,64* | 0,66* | 0,34* | 1,00 | 0,15 |
| UFO | 0,33* | 0,52* | 0,12 | 0,08 | 0,15 | 1,00 |

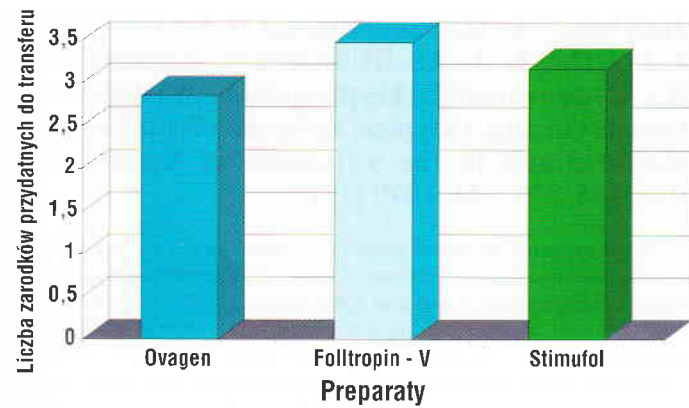
Objaśnienia: LCL – liczba ciałek żółtych, TOE – całkowita liczba zarodków i oocytów, TE – całkowita liczba zarodków, TRE – całkowita liczba zarodków przydatnych do transferu, DEG – liczba zarodków zdegenerowanych, UFO – liczba nie zapłodnionych komórek jajowych; * korelacje istotne na poziomie $p < 0,05$

Tab. 2. Wpływ liczby zabiegów pozyskiwania zarodków na efektywność superowulacji

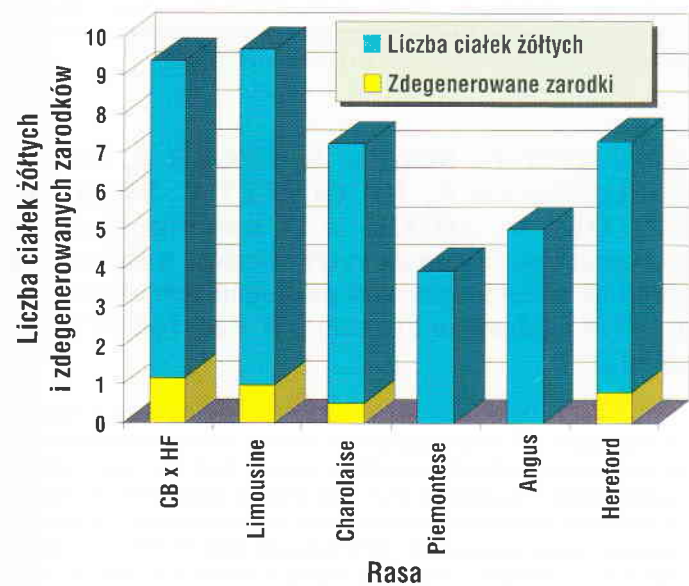
| Liczba zabiegów | Liczba jałowic | Efektywność superowulacji | | | | |
|-----------------|----------------|---------------------------|------|------|------|------|
| | | LCL | TOE | TE | TRE | DEG |
| I | 181 | 7,14 | 4,86 | 3,65 | 2,73 | 0,92 |
| II | 45 | 7,57 | 5,37 | 4,48 | 3,49 | 1,07 |
| III | 10 | 11,1 | 8,4 | 7,0 | 5,4 | 2,5 |
| > III | 2 | 20,0 | 18,5 | 9,0 | 11,5 | 3,0 |

Istotny wpływ na wyniki superowulacji wywierało stado, w którym przebywały dawczynie. W stadzie I wyższa była liczba ciałek żółtych ($p < 0,001$) niższa natomiast liczba zarodków ogółem ($p < 0,001$) oraz zarodków przydatnych do transferu ($p < 0,001$). W stadzie II niższa była liczba ciałek żółtych ($p < 0,05$) i II ($p < 0,05$). W stadzie IX stwierdzano istotnie więcej TOE ($p < 0,05$), TE ($p < 0,05$) oraz TRE ($p < 0,05$). Z kolei w stadzie IV istotnie wyższa była liczba zdegenerowanych zarodków ($p < 0,05$). Wpływ stada, w którym przebywała dawczyni – mimo, że oczywisty – rzadko był przedmiotem analiz. Różnice pomiędzy efektywnością superowulacji w różnych stadach wynikają z przyczyn organizacyjnych, żywieniowych, rasowych, a także odmienności chowu i utrzymania. Ich znaczenie w odniesieniu do bioczyń zarodków podkreślano we wcześniejszych badaniach (15, 17).

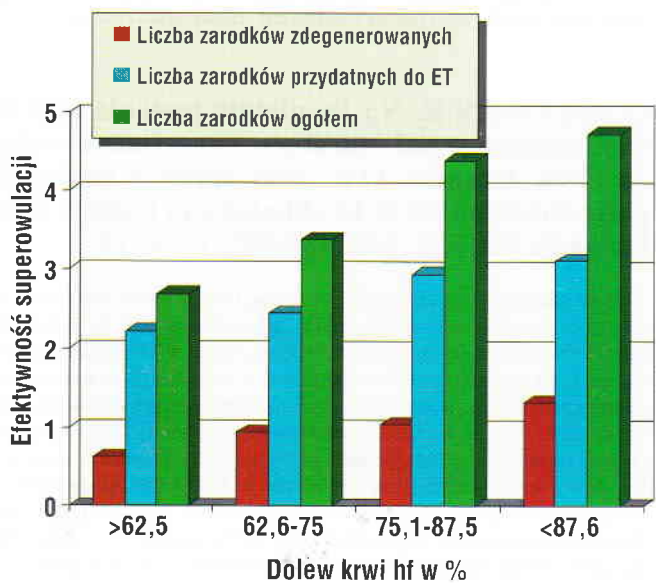
Stwierdzono istotny wpływ pory roku na liczbę ciałek żółtych oraz zdegenerowanych zarodków. Istotnie więcej ciałek żółtych stwierdzano latem ($p < 0,05$), jesienią natomiast więcej zdegenerowanych zarodków ($p < 0,001$). W badaniach krajowych przeprowadzonych na dużej populacji dawczyń stwierdzono istotne obniżenie liczby pozyskiwanych zarodków w miesiącach lipiec i sierpień (10, 15). Niekorzystny wpływ wysokiej temperatury otoczenia na płodność krow, a także wyniki superowulacji obserwowali liczni auto-



Ryc. 1. Wpływ preparatu gonadotropowego na liczbę zarodków przydatnych do transferu



Ryc. 2. Wpływ rasy dawczyni na liczbę ciałek żółtych i zdegenerowanych zarodków



Ryc. 3. Wpływ dolewu krwi holsztynofryza u jałowic rasy czarno-białej (cb) na efektywność superowulacji

rzy (11, 12). Jednym z przejawów jej ujemnego wpływu jest zwiększony odsetek zdegenerowanych zarodków. Odsetek prawidłowych zarodków obniżał się z 57% w 7 dniu po rui do 27% w 14 dniu po rui u krów podczas pory suchej, natomiast nie zmieniał się istotnie podczas pory chłodnej (14). W warunkach klimatu europejskiego nie notowano jednak wpływu pory roku na efektywność superowulacji (12, 14).

Wpływ rasy dawczyni zaznaczył się wyłącznie w odniesieniu do LCL oraz DEG. Istotnie więcej ciałek żółtych notowano u krów ras limousine i cb × hf (odp. $p < 0,001$, oraz $p < 0,05$) marginalnie mniej natomiast u rasy piemontese ($p < 0,07$). Z kolei w odniesieniu do DEG istotnie więcej zdegenerowanych zarodków stwierdzano u jałowic cb × hf ($p < 0,001$), istotnie mniej natomiast u rasy angus ($p < 0,05$). Wpływ rasy dawczyni na liczbę stwierdzanych ciałek żółtych przedstawia ryc. 2. Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że rasa dawczyni może mieć znaczący wpływ na efektywność superowulacji (3). U krów mięsnych największą liczbę zarodków przydatnych do transferu produkowały dawczynie rasy simental oraz brangus, mniej simbrah i salers. Stwierdzano także pewne różnice pomiędzy rasami mięsnymi i mlecznymi (7). Badania własne nie potwierdzają takiej zależności w odniesieniu do jałowic różnych ras bydła. Wprawdzie u jałowic cb × hf oraz limousine liczba ciałek żółtych wynosiła 8,18 i 8,66 i była istotnie wyższa niż u jałowic innych ras jednak czynnik ten nie odgrywał istotnej roli w odniesieniu do liczby pozyskanych zarodków.

Im wyższy był udział krwi holsztynofryza w genotypie czarno-białej dawczyni tym wyższa była liczba pozyskanych zarodków ($p < 0,001$), zarodków przydatnych do transferu ($p < 0,001$) oraz zdegenerowanych zarodków ($p < 0,001$). Wpływ dolewu krwi holsztynofryza u jałówek rasy czarno-białej (cb) na efektywność superowulacji przedstawia ryc. 3. W dostępnym piśmiennictwie brak jest informacji odnośnie wyników superowulacji u mieszańców krajowego bydła czarno-białego z bydlęm holsztynofryzyjskim. Biorąc pod uwagę istotnie różną efektywność superowulacji u dawczyni różnych ras bydła, należy przypuszczać, że rasę holsztynofryzyjską cechuje potencjalnie wyższa „wydajność” w odniesieniu do liczby produkowanych zarodków niż rasę czarno-białą. Fakt ten niekoniecznie musi iść w parze z płodnością mieszańców cb × hf. Jak wynika z badań krajowych zwiększający się udział genów holsztynofryza w genotypach bydła cb ujemnie wpływa na płodność krów, ich zdrowotność oraz zwiększa odsetek brakowanych z powodu jałowoci krów (5).

Nie stwierdzono istotnego wpływu buhaja użytego do unasieniania dawczyni zarodków na liczbę zarodków ogółem oraz liczbę zarodków przydatnych do transferu. Wpływ unasieniania dawczyni nasieniem konkretnego buhaja przejawiał się natomiast w wy-

rażnej tendencji do wzrostu ilorazu Ti ($p < 0,06$). Iloraz ten obrazuje odsetek prawidłowych zarodków spośród ogółu pozyskanych zarodków. O istotnym wpływie buhaja używanego do inseminacji dawczyń donoszono wcześniej (12, 16).

Przeciętny wiek jałowic wynosił 19,1 miesiący, przy czym najmłodsze w dniu pierwszego zabiegu pozytkiwania zarodków były jałowice $cb \times hf$ oraz hereford odp. – 16,7 i 19,0 miesiący, najstarsze natomiast angus i piemontese – odp. 23,3 i 25,2 miesiący. Te różnice w wieku jałowic nie miały wpływu na wyniki superowulacji. Podobnie wiek nie różnicował wyników superowulacji u krów, o ile wynosił on od 3-22 lat (4, 6).

Piśmiennictwo

1. Detterer J., Schmidt T., Harlizius B.: Factors influencing the variability in superovulation results in german holstein cattle. *Theriogenology* 1997, 47, 169 abstr.
2. Donaldson L. E.: Embryo production in superovulated cows: transferable embryos correlated with a total embryos. *Theriogenology* 1984, 21, 517-524.
3. Donaldson L. E.: Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. *Theriogenology* 1984, 21, 1013-1018.
4. Donaldson L. E.: Effect of age of donor cows on embryo production. *Theriogenology* 1984, 21, 963-968.
5. Gnyp J., Trautman J., Kamieniecki K.: Płodność i przyczyny brakowania krów mieszańców z różnym udziałem genów bydła rasy holstynofryzyskiej. *Medycyna Wet.* 1995, 51, 533-535.
6. Hayman D. L., Chitty L. G., Seddon C. R.: Comparative embryo recoveries in non-parous holstein-fersian yearlings and parous cows. *New Zealand ET Workshop*, Hamilton, 1994, 1, 24-25.
7. Jaśkowski J. M., Hutnikiewicz I. M., Lewandowski Z., Sucharski M., Znaniecki R., Kaźmierczak Z.: Wpływ FSH-P i Folicotropiny na wyniki superowulacji u krów różnych ras. *Medycyna Wet.* 1995, 51, 97-99.
8. Jaśkowski J. M., Zbylut J., Urbaniak K.: Wyniki pozyskiwania zarodków u krów i jałowic. *Życie Wet.* 1997, 72, 137-139.
9. Jaśkowski J. M.: *Medycyna Wet.* Transfer zarodków bydłych w Polsce w latach 1997-1998 – skala i skuteczność metody. *Medycyna Wet.* 2000, 56, 29-31.
10. Jaśkowski J. M., Zbylut J.: Wyniki superowulacji u krów – analiza retrospektywna. *Mat. XI Kongresu PTNW*, Lublin, 2000 (w druku).
11. Payas A. J., Broadbent P. J., Dolman D. F., Christie W. B.: Factors affecting pregnancy rate in embryo transfer recipients with reference to plasma progesterone. *Theriogenology* 1989, 31, 238 abstr.
12. Ruigh de L., Streek van de G., Wagtendonk-de Leeuw A. M.: The effect of removal of the dominant follicle prior to superovulation on embryo yield. *Theriogenology* 1996, 45, 363 abstr.
13. Ryan D. P., Prichard J. F., Kopel E., Godke R. A.: Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool season of the year. *Theriogenology* 1993, 39, 719-737.
14. Reinhardt H. J., Rohn K.: Die Anwendung Follikel-stimulierender Hormone (FSH-P) zur Auslösung der Superovulation beim Rind. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 1992, 99, 85-124.
15. Urbaniak K., Jaśkowski J. M.: Wpływ endo- i egzogenego progesteronu na wyniki zacielen u krów biocznych zarodków. *Medycyna Wet.* 2000 (w druku).
16. Znaniecki R., Jaśkowski J. M.: Czynniki opisujące efektywność superowulacji i wyniki pozyskiwania zarodków u krów mlecznych. *Medycyna Wet.* 1997, 53, 453-457.
17. Znaniecki R., Jaśkowski J. M., Znaniecka E.: Wpływ niektórych czynników na wyniki zacielen u jałowic biocznych zarodków. *Medycyna Wet.* 1998, 54, 550-553.

Adres autora: lek. wet. Janusz Zbylut, Al. Ossolińskich 4/1A, 85-093 Bydgoszcz; e-mail: piwetby@webmedia.pl

JOHNSON E. H., MUIRHEAD D. E., WINDSOR J. J., KING G. J., AL-BUSAIDY R., CORNELIUS R.: Atypowe ognisko kryptosporidiozy u kóz w sultanacie Omanu. (Atypical outbreak of caprine cryptosporidiosis in the Sultanate of Aman). *Vet. Rec.* 145, 521-524, 1999 (18)

Kryptosporidioza wywołana przez *Cryptosporidium parvum* jest poważną chorobą nowo narodzonych przeżuwaczy. Masowe zachorowania na kryptosporidiozę wystąpiły u kóz w wieku od 2 dni do ponad 1 roku w fermie liczącej 2000-2200 sztuk kóz. Zwierzęta regularnie szczepiono przeciwko zakaźnej pleuropneumonii, pryszczycy, ospie kóz, pomorowi małych przeżuwaczy, infekcją wywołaną przez *Clostridia* i pasterelozie. Nie chorowały owce, krowy, bawoły i inne zwierzęta przebywające w fermie. Zachorowalność kóz w grupie wiekowej do 6 miesięcy wynosiła 100%. Pomimo interwencji lekarsko-weterynaryjnej padło 238 kóz w wieku od 2 dni do ponad 1 roku. Kryptosporidia występowały w dużych ilościach w treści jelit padłych zwierząt oraz w wymazach z odbytnicy kóz z biegunką. Inwazja pasożyta spowodowała wystąpienie ostrego nieżytowego zapalenia jelit, głównie odcinka środkowego i tylnego jelita cienkiego, przy braku zmian w jelicie grubym. U części zwierząt rozwinęło się zapalenie płuc, głównie na tle zakażenia przez *Escherichia coli*.

FROMONT E., SOGER A., LEGER F., BOURGERMEISTER F., JOUQUELET F., STAHL P., PONTIER D., ARTOIS M.: Częstość występowania i patogenność retrovirusów u żbików we Francji. (Prevalence and pathogenicity of retroviruses in wildcats in France). *Vet. Rec.* 146, 317-319, 2000 (11)

Jakkolwiek wirus białaczki kotów (FeLV) oraz wirus niedoboru immunologicznego kotów (FIV) często atakuje koty domowe i dzikie, to dotychczas rzadko opisywano przypadki zakażenia żbików wirusem FeLV. We Francji żbiki zasiedlają Pireneje oraz północno-wschodnią zalesioną część Francji. Ze względu na możliwość kontaktu kotów domowych ze żbikami określono częstość zakażenia żbików wirusem FeLV i FIV. Badaniem objęto 38 żbików. Zwłoki 26 zakażonych w centralnej i wschodniej Francji w okresie maj 1996-maj 1998. Główną przyczyną śmierci było przejechanie przez samochody. 13 żbików odłowiono w okresie od lipca 1996 do lutego 1997 w centralnej Francji. U 9 (23,7%) stwierdzono obecność antygenu p27-FeLV, u 3 (7,6%) obecność swoistych przeciwciał dla wirusa FIV. Występowała wyraźna zależność pomiędzy zakażeniem FeLV a kondycją zwierzęcia. Wszystkie zakażone sztuki były w złej kondycji. Wirus FeLV mógł być przyczyną zwiększonej śmiertelności żbików.

O'SULLIVAN E. N.: Dwuletnie badania nad występowaniem ropni wątroby w 10 rzeźniach w okręgu Cork, Irlandia. (Two-year study of bovine hepatic abscessation in 10 abattoirs in County Cork Ireland). *Vet. Rec.* 145, 389-393, 1999 (14)

Przebadano wątroby 6337 jałówek w wieku 12-16 miesięcy poddanych ubojowi w 10 rzeźniach na terenie hrabstwa Cork w okresie 2 lat. W 368 przypadkach (5,8%) stwierdzono zmiany patologiczne, w tym w 120 wątrobach (1,9% ropnie. U 53 osobników (44%) występował w wątrobie jeden duży ropień o średnicy poniżej 4 cm, u 23 (19%) w wątrobie występowało więcej niż 2 ropnie, zaś u 2 (16,6%) ropnie były rozlane, podczas gdy w 10 (8,3%) przypadkach ropnie pokryły. Zrosty wątroby z przeponą stwierdzono w 43 (35,8%) przypadkach, w przypadkach miały miejsce zrosty z innymi narządami wewnętrznymi. Zmiany bliznowate występowały na powierzchni 12 (10%) wątrob, a w 2 przypadkach wystąpiły zmiany typowe dla inwazji *Fasciola hepatica*. W 28 wątrobach ropnie przylegały do żyły czezej tylnej, co mogło spowodować wystąpienie chorób zakrzepowo-zatorowej. Tylko u jednej jałowki wystąpiły objawy kliniczne związane z obecnością ropni w wątrobie.