

Możliwość przewidywania wyniku superowulacji u krów

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI, JANUSZ ZBYLUT, KATARZYNA BUDZIŃSKA*,
KRZYSZTOF URBANIAK**

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

*Katedra Higieny Zwierząt i Mikrobiologii Środowiska Wydziału Zootechnicznego ATR,
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

**Katedra Weterynarii Rolniczej Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt AR,
ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań

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

The possibility of predicting superovulation results in cows

Summary

The aim of analysis was to determine whether it is possible to predict the results of the second superovulation after the results of the first superovulation. Analyses were carried out on 62 cows and 59 heifers, selected from 693 donor cows superovulated in 1996-2001. Sixty-one from these were from the black white breed, the remaining 60 cows were limousine and charolaise breed. The animals were flushed in the same reproductive cycle two times. Superovulations were initiated between the 9th and 12th days of the cycles. All donors received i.m. injections of FSH. Embryos were collected at 7 days after heat. Donor cows were divided into three groups in respect to the number of transferable embryos. In group I (n = 66 animals [poor donor group]) less than 2 embryos were flushed from the uterus. Group II (n = 34 cows [fair donors]) included all donors giving 3 to 6 transferable embryos. From donors included in group III (n = 21 [satisfactory donors]), 7 and more embryos were obtained per flush. After 2-2.5 months all donors were superovulated and flushed a second time and – respecting the number of transferable embryos – included in groups one from three. There was a highly significant ($p < 0.001$) correlation between the results of the first and second superovulations. In group I with an unsatisfactory number of transferable embryos after the first superovulation, in the second one 71.2% ($p < 0.02$) donors did not improve their effectivity of superovulation and were again qualified to the same group. In the remaining groups no correlation between both flushes was discovered.

Keywords: superovulation, cows, expectation of results

Wynik superowulacji u krów charakteryzuje duża zmienność. W piśmiennictwie istnieje na ogół zgodne przekonanie, że w odniesieniu do indywidualnych osobników trudno jest przewidzieć liczbę zarodków pozyskiwanych od dawczyń poddawanych superowulacji po raz pierwszy (1, 3, 7). Do podobnych wniosków składają analizy wyników populacyjnych, w których część poddawanych superowulacji dawczyń poddawana jest w konkretnym cyklu reprodukcyjnym kolejnemu zabiegowi pozyskiwania zarodków (3). Tymczasem z praktyki hodowlanej wynika, że – na podstawie gruntownej oceny efektywności pierwszej superowulacji – można z pewnym prawdopodobieństwem wytypować tzw. dobre dawczynie zarodków, w konsekwencji zapewnić uzyskanie satysfakcjonujących wyników.

Celem badań była próba udzielenia odpowiedzi czy na podstawie wyników pierwszej superowulacji można przewidzieć efektywność drugiej superowulacji.

Materiał i metody

Analizę przeprowadzono na podstawie wyników efektywności superowulacji u 121 krów dawczyń zarodków,

wybranych spośród 693 samic poddawanych superowulacji w latach 1996-2001. W grupie dawczyń znajdowało się 59 jałowic oraz 62 krowy przeważnie do trzeciej laktacji włącznie. Do krzyżówek ras cb i hf należało 61 krów, pozostałe 60 do ras mięsnych – limousine i charolaise. Cechą wspólną dawczyń było dwukrotne przeprowadzenie polio-wulacji i zabiegu wypłukiwania macicy w tym samym cyklu reprodukcyjnym. Superowulację rozpoczynano między 9 a 12 dniem cyklu rujowego. Dawczynie otrzymywały serię iniekcji FSH. W przypadku dawczyń krów mlecznych podawano wyłącznie oFSH (Ovagen, ICP), krów mięsnych natomiast pFSH (Foltropin V, Vetrepharm). Prostaglandynę podawano po 5 i 6 lub 7 i 8 iniekcji FSH. Samice unasienniano nasieniem mrożonym według objawów rui. Zarodki pozyskiwano metodą bezkrwawą w 7 dniu po rui, a następnie poddawano ocenie morfologicznej pod mikroskopem stereoskopowym. Wszystkie zabiegi na samicach przeprowadzane były przez jeden zespół pozyskiwania zarodków.

W zależności od liczby pozyskanych, przydatnych do transferu zarodków dawczynie podzielono umownie na trzy grupy. Do grupy I – dawczyń niedostatecznych – zaliczono samice, u których w pierwszym zabiegu pozyskiwania za-

rodków liczba ich nie przekraczała 2. Do grupy II – dawczyń przeciętnych – zakwalifikowano samice, od których w pierwszym zabiegu pozyskiwania zarodków wyplukiwano od 3 do 6 zarodków przydatnych do transferu. Do grupy III – dawczyń dobrych – natomiast krowy i jałowice, od których w pierwszym zabiegu wyplukano 7 i więcej zarodków przydatnych do transferu. Po upływie 2-2,5 miesiąca wszystkie dawczynie zarodków poddawano drugiej superowulacji i ponownie – w zależności od liczby wyplukanych, przydatnych do transferu zarodków – zaliczano dawczynie do jednej z trzech opisanych wyżej grup.

Wyniki oceniono statystycznie korzystając z korelacji dwuseryjnej Spearmana. Wyliczony współczynnik Spearmana (R) zakłada, że rozważane zmienne zostały zmierzzone co najmniej na skali porządkowej tzn., że obserwacje mogą być istotne w uporządkowanych szeregach. W obliczeniach wykorzystano program statystyczny Statistica.

Wyniki i omówienie

W pierwszym etapie dokonano badania korelacji dwuseryjnej dla wszystkich dawczyń. Współczynnik korelacji Spearmana (R) wyniósł przy $t(120) - 4,71$ ($p < 0,001$). Dowodzi to, że pomiędzy pierwszym i drugim zabiegiem pozyskiwania zarodków u tej samej dawczynie występuje istotna współzależność.

W etapie drugim postanowiono ocenić korelację dla dawczyń poszczególnych grup. Dwukrotnemu zabiegowi superowulacji i pozyskiwania zarodków poddano 121 krow. Z tej liczby po pierwszej superowulacji do grupy pierwszej zakwalifikowano 66 samic (54,5%), natomiast grup II i III odp. 34 (28,1%) i 21 (17,41%). Udział dawczyń w poszczególnych grupach był zbliżonych do własnych danych populacyjnych oraz podawanych przez innych autorów (3). Rycina 1 przedstawia dystrybucję dawczyń zarodków w zależności od liczby zarodków przydatnych do transferu u krow dawczyń na podstawie 693 superowulacji. Uwzględniając przyjęte kryteria (grupy I – III), niezależnie od liczby dokonywanych zabiegów superowulacji w ogólnej populacji dawczyń zarodków zdecydowana większość – 440 (63,4%) – kwalifikuje się do grupy I, mniej do grupy II – 150 (21,6%), najmniej 103 (15%) natomiast do grupy III. Dystrybucja liczby zarodków przydatnych do transferu nie odbiega znacząco od podawanych przez innych autorów (3).

Szczegółowe dane odnośnie do efektywności superowulacji w poszczególnych grupach zawiera tab. 2, która przedstawia przeciętną liczbę ciałek żółtych, zarodków i komórek jajowych ogółem oraz zarodków przydatnych do transferu z uwzględnieniem pierwszego i drugiego zabiegu wyplukiwania zarodków. Z kolei w tab. 2 przedstawiono odsetek samic zakwalifikowanych po drugiej superowulacji do poszczególnych

Tab. 1. Przeciętna liczba ciałek żółtych, zarodków i komórek jajowych ogółem oraz zarodków przydatnych do transferu w poszczególnych grupach krow po pierwszym i drugim zabiegu pozyskiwania zarodków

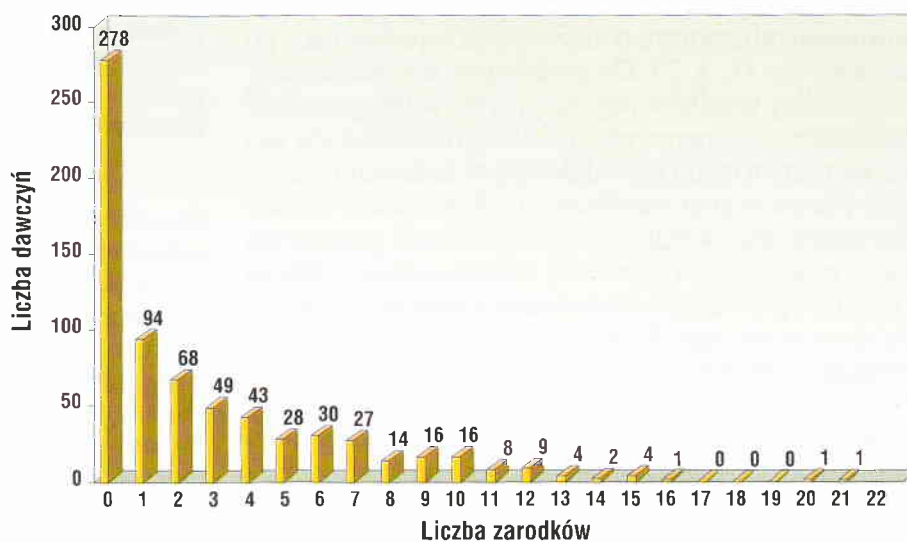
Liczba zarodków (grupa)	Superowulacja	Liczba ciałek żółtych (LCL)	Liczba zarodków i komórek jajowych (TOE)	Liczba zarodków przydatnych do transferu (TRE)
0-2 (I)	I	6,27	3,07	0,73
	II	6,95	4,25	2,18
3-6 (II)	I	8,33	7,21	4,27
	II	6,81	5,87	3,03
>7 (III)	I	11,9	12,17	8,9
	II	10,9	10	6,19

Tab. 2. Odsetek samic zakwalifikowanych po drugiej superowulacji do poszczególnych kategorii dawczyń

Kategoria (grupa)	Rasy	Liczba krow (n)	Kategoria (grupa)		
			0-2	3-6	>7
0-2 (I)	mięsne	37	70,2	21,6	8,2
	mleczne	29	72,4	10,3	17,3
	razem	66	71,2	16,7	12,1
3-6 (II)	mięsne	12	83,4	8,3	8,3
	mleczne	22	54,5	27,2	18,3
	razem	34	64,7	20,5	14,8
>7 (III)	mięsne	11	18,1	9,1	72,8
	mleczne	11	45,4	36,4	18,2
	razem	21	31,8	22,7	45,5

kategorii dawczyń. Uzupełnieniem graficznym tab. 2 są ryc. 2-4.

W grupie I – tj. dawczyń, od których w pierwszym zabiegu pozyskiwania zarodków pozyskano nie wię-

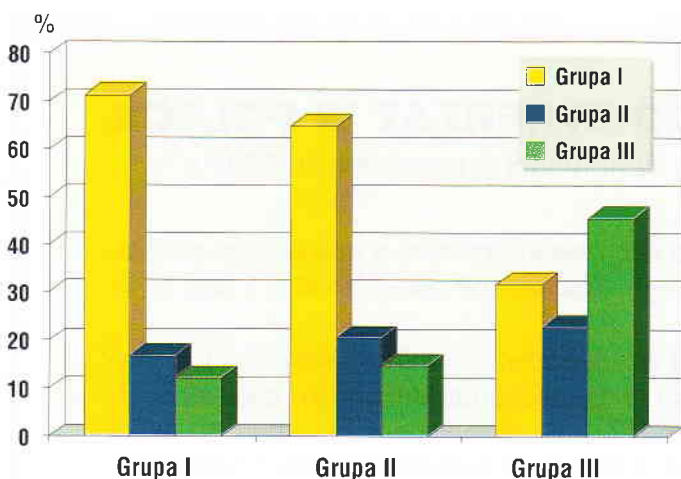


Ryc. 1. Dystrybucja dawczyń w zależności od liczby zarodków przydatnych do transferu (n = 693)

cej niż dwa zarodki przydatne do transferu – po drugiej superowulacji do tej samej grupy zaklasyfikowano 47 (71,2%) samic, natomiast do grup II i III zaliczono odp. 11 (16,7%) i 8 (12,1%) krów. Przeciętna liczba zarodków pozyskana od dawczyń w grupy I wynosiła po pierwszym zabiegu 0,73, po drugim natomiast wzrastała do 2,18 (tab. 1). Współczynnik korelacji Spearmana (R) pomiędzy wynikiem pierwszego i drugiego zabiegu pozyskiwania zarodków wyniósł $t(65) - 0,29$ ($p < 0,05$).

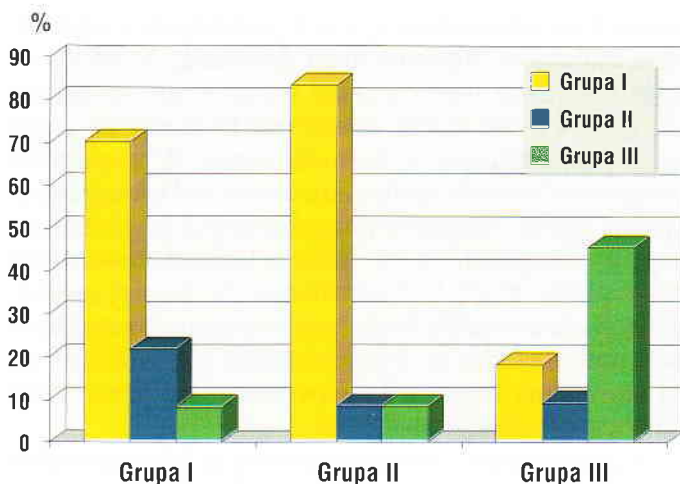
W grupie II, w której zestawiono dawczynie, od których po pierwszym zabiegu pozyskiwania zarodków wyflukano od 3 do 6 zarodków przydatnych do transferu. Do tej samej kategorii (grupa II) po drugiej superowulacji zaliczono zaledwie 7 (20,5%) dawczyń. Zdecydowana jednak większość z nich 22 (64,7%) osiągnęła wynik gorszy, pozwalający na ich zaliczenie do grupy I. Niewielki odsetek 5 (14,8%) dawczyń grupy II po drugim zabiegu pozyskiwania zarodków zaklasyfikowany został do grupy III. Równocześnie w grupie II po pierwszej superowulacji wyflukowano średnio 4,27 zarodków, po drugiej mniej – 3,03. Współczynnik korelacji Spearmana wyniósł $t(33) - 0,202$ ($p < 0,05$) i nie był istotny statystycznie.

W grupie III – w której zestawiono dawczynie, od których po pierwszym zabiegu pozyskano 7 i więcej zarodków, bardzo dobry wynik superowulacji powtórzyło 10 (45,5%) dawczyń. Do grupy II i I zaliczono odp. 5 (22,7%) i 7 (31,85%) dawczyń. Równocześnie w grupie III po pierwszej superowulacji pozyskiwano średnio 8,9 zarodków przydatnych do transferu, po drugiej natomiast 6,19. Współczynnik korelacji Spearmana pomiędzy liczbą pozyskanych zarodków po pierwszym i drugim zabiegu superowulacji wyniósł $t(20) - 0,17$ ($p > 0,05$) i nie był istotny statystycznie.



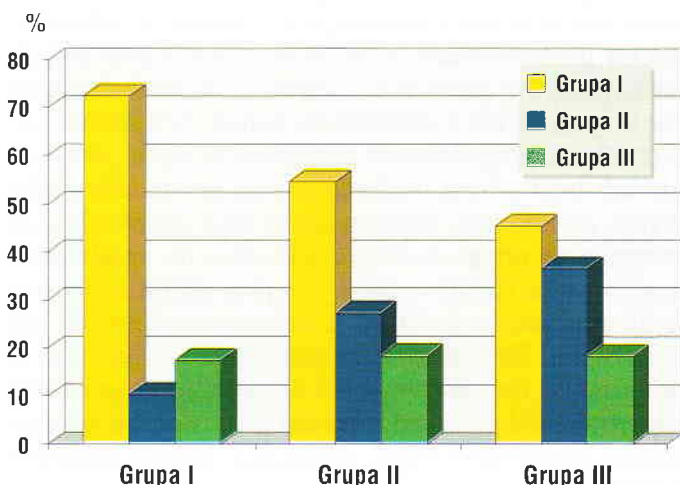
Ryc. 2. Powtarzalność wyniku superowulacji u krów dawczyń zarodków – odsetek dawczyń zaliczonych po pierwszej superowulacji do jednej z trzech grup, kwalifikowanych do analogicznych grup po drugim zabiegu

Objaśnienia: grupa I – krowy, od których pozyskano 2 i mniej zarodków przydatnych do transferu; grupa II – krowy, od których pozyskano 3-6 zarodków; grupa III – krowy, od których pozyskano 7 i więcej zarodków



Ryc. 3. Powtarzalność wyniku superowulacji u krów dawczyń ras mięsnych – odsetek dawczyń zaliczonych po pierwszej superowulacji do jednej z trzech grup, kwalifikowanych do analogicznych grup po drugim zabiegu

Objaśnienia: jak na ryc. 1.



Ryc. 4. Powtarzalność wyniku superowulacji u krów dawczyń rasy cb×hf – odsetek dawczyń zaliczonych po pierwszej superowulacji do jednej z trzech grup, kwalifikowanych do analogicznych grup po drugim zabiegu

Objaśnienia: jak na ryc. 1.

Z przedstawionych danych liczbowych wynika, że w grupie dawczyń, w której uzyskiwano niedostateczną liczbę zarodków po pierwszej superowulacji, w kolejnej ponad 70% dawczyń nie poprawia znacząco uzyskanego wcześniej wyniku i kwalifikowana jest na powrót do tej samej kategorii dawczyń. W pozostałych grupach – przypuszczalnie z powodu niedostatecznie licznego materiału porównawczego – istotnej korelacji nie wykazano. Równocześnie wydaje się, że najmniejsza przewidywalność wyniku kolejnej superowulacji dotyczy dawczyń grupy II. Innymi słowy tę grupę samic cechuje najwyższa zmienność wyniku superowulacji.

Uzyskane wyniki są sprzeczne z obserwacjami wielu autorów, którzy przeprowadzając szerokie badania populacyjne podobnych tendencji nie obserwowali (5, 6). Z kolei badania holenderskie, przeprowadzone na kilkunastu wybitnych pod względem liczby wyfluki-

wanych zarodków dawczyniach, poddanych wielokrotnym zabiegom superowulacji dowodzą, że efektywność kolejnych superowulacji nie zmienia się istotnie (2, 4). Być może jednak dawczynie te stanowiły grupę uprzednio starannie wybranych samic. W większości przeprowadzonych analiz zauważalny był także pewien spadek liczby zarodków pozyskiwanych po kolejnych superowulacjach (3, 4, 7). Także w badaniach własnych z wyjątkiem grupy I, obserwowano po drugiej superowulacji obniżenie się liczby pozyskiwanych zarodków. Jest ono związane ze zmniejszeniem się wrażliwości na stosowany hormon i pojawieniem się przeciwciał na obcą substancję białkową.

Interesujących obserwacji dostarcza bliższa analiza danych tab. 2 w odniesieniu do efektywności kolejnych superowulacji w zależności od rasy dawczyń. W grupie dawczyń, od których pozyskiwano największą liczbę zarodków bardzo dobry wynik powtarzało 72,8% krów ras mięsnych, natomiast pośród krów mlecznych tylko 18,2%. W grupie dawczyń średnich nie obserwowano wyraźniejszych różnic w odniesieniu do porównywanych ras krów. Niezależnie jednak od czynników rasowych – zarówno pośród dawczyń ras mięsnych jak i mlecznych ponad 70% samic, od których nie pozyskiwano zarodków w ogóle, względnie ich liczba była niedostateczna, powtarzało słaby wynik po kolejnej superowulacji. Być może więc, że ewentualne prognozowanie odnośnie do spodziewanego wyniku superowulacji jest, przynajmniej w pewnych granicach, prostsze u krów ras mięsnych niż mlecznych. Dane dotyczące rasowych odmienności w odniesieniu do efektywności następujących po sobie superowulacji z powodu stosunkowo nielicznego materiału porównawczego, wymagają jednak dalszych badań.

Reasumując, istnieje istotny związek pomiędzy wynikami pierwszej i drugiej superowulacji u konkretnej dawczynie zarodków. Jest on szczególnie wyraźny w odniesieniu do dawczyń, od których pozyskiwano niedostateczną liczbę zarodków. Fakt ten ma konkretne implikacje praktyczne, wskazuje bowiem, że dla uniknięcia niskiej efektywności superowulacji należałoby zrezygnować z pozyskiwania zarodków od samic zaliczonych po pierwszej superowulacji do dawczyń niedostatecznych. Równocześnie należy podkreślić, że przedstawione przez nas wyniki dotyczą wyłącznie zabiegów pozyskiwania zarodków przeprowadzanych w tym samym cyklu reprodukcyjnym, w związku z czym ewentualne rokowanie odnośnie do możliwości pozyskiwania zarodków od konkretnej dawczynie w kolejnych cyklach reprodukcyjnych jest przedwczesne.

Piśmiennictwo

1. Bastidas D. T.: Recent advances in superovulation in cattle. *Theriogenology* 1993, 39, 7-24.
2. Gielen J. Th., Roerink G. H., Atoon R. E., Vonk Noordegraaf C. A., Pasma J., Nell.: Use of PMSG plus Neutra-PMMSG in dairy cows treated repeatedly for superovulation. *Theriogenology* 1990, 33, 229.
3. Lamberson W. R., Lamberth V. A.: Repeatability of response to superovulation in Brangus cows. *Theriogenology* 1986, 26, 643-648.
4. Moor R. M., Kruij Th. A. M., Green D.: Intraovarian control of folliculogenesis: limits to superovulation? *Theriogenology* 1984, 21, 103-116.
5. Tonhati H., Lobo R. B., Oliveira H. N.: Repeatability and heritability of response to superovulation in holstein cows. *Theriogenology* 1999, 51, 1151-1156.
6. Yamamoto M., Ooe M., Suzuki T.: Difference of superovulation according to donors from which transferable embryos were or were not obtained by single flushing. *Theriogenology* 1990, 33, 357.
7. Znaniecki R., Jaśkowski J. M.: Czynniki opisujące efektywność superowulacji i wyniki pozyskiwania zarodków u krów mlecznych. *Medycyna Wet.* 1997, 53, 454-457.

Adres autora: prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski, ul. Św. Trójcy 35/50, 85-090 Bydgoszcz

STAN ZAKAŻNYCH CHOROBY ZWIERZĄT W POLSCE, według danych Głównego Inspektoratu Weterynarii w październiku 2002 r.*)

- 1) **Wścieklizna zwierząt domowych** – wystąpiła w 3 województwach, a mianowicie: podkarpackim (1-1), podlaskim (4-8), wielkopolskim (4-6). Wściekliznę stwierdzono u 1 psa, 6 kotów i 8 sztuk bydła.
- 2) **Wścieklizna zwierząt dzikich** – wystąpiła w 9 województwach: dolnośląskim (1-1), kujawsko-pomorskim (1-1), lubelskim (7-8), lubuskim (1-1), podkarpackim (7-19), podlaskim (7-11), warmińsko-mazurskim (3-3), wielkopolskim (17-47), zachodniopomorskim (1-1). Zano-towano ją u 68 lisów, 13 jenotów, 3 saren, 2 kun, 2 tchórzy, 1 borsuka, 1 fretki i 1 nietoperza.
- 3) **Gąbczasta encefalopatia bydła** – wystąpiła w województwie lubelskim (1-1).
- 4) **Zgnielec złośliwy pszczoł** – wystąpił w 2 województwach, a mianowicie: małopolskim (1-1) i mazowieckim (1-1).

*¹ w nawiasach podano liczbę powiatów i miejscowości, w których choroba została stwierdzona w okresie sprawozdawczym.