

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI

Czynniki wpływające na wyniki zacieleń u krów biorczyń zarodków

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

W ostatnich latach notuje się w kraju wyraźny wzrost zainteresowania hodowców transferem zarodków u krów. Liczba samic poddawanych superowulacji zwiększyła się w ciągu czterech lat z około 300 w 1992 r. do 1300. Powiększyła się także liczba transferów zarodków świeżych i mrożonych, nierzadko pochodzących z importu. Z danych krajowych jednak wynika, że zarówno wyniki superowulacji jak i wskaźnik zacieleń u biorczyń zarodków są niewystarczające. Przykładowo Morstin i wsp. (17) podają, że wskaźnik zacieleń po przeniesieniu świeżych zarodków nie przekracza w kraju 45%, mrożonych natomiast jest jeszcze niższy.

W związku z tym celowe wydawało się przedstawienie współczesnych poglądów na temat czynników warunkujących powodzenie transferu zarodków u biorczyń.

Większość autorów uzależnia wyniki zacieleń u biorczyń od stadium rozwoju zarodka (4, 32). Wprawdzie Wright (31) nie notował różnic w wynikach zacieleń u biorczyń, otrzymujących zarodki pozyskane między 6,5 a 8 dniem po rui, jednak Donaldson (4) donosił o istotnych różnicach w ilości ciąży w odniesieniu do stopnia rozwoju zarodka. Niektórzy twierdzą, że stadium rozwoju zarodka ściśle koresponduje z wiekiem zarodka wyliczonym w odniesieniu do superowulowanej rui. Wiek rozwojowy zarodka był w tym przypadku używany jak wynika z badań Donaldsona (4) niesłusznie – do określania wzajemnego zsynchronizowania rui u dawczyń i biorczyń i wywierał decydujący wpływ na wyniki zacieleń. Autor ten podaje, że niezależnie od stopnia zsynchronizowania cyklu rujowego dawczyń i biorczyń, najlepsze wyniki uzyskiwano wprowadzając do macicy późne blastocysty, gorsze po wprowadzeniu moruli, najśłabsze natomiast – blastocysty ekspandującej. Obserwacje powyższe potwierdzają dane krajowe (32).

O istotnym związku pomiędzy jakością zarodków, a odsetkiem zacielenych biorczyń donosiło wielu autorów (12, 19, 25, 32). Przyjmuje się, że najwyższy wskaźnik zacieleń można uzyskać tylko w tych przypadkach, w których przenoszony był zarodek bardzo dobrej jakości. Schneider i wsp. (25) podają, że przeniesienie zarodków dobrej jakości gwarantowało ciążę u 70% jałowic, natomiast zarod-

ków dostatecznej jakości – u 55% biorczyń. Podobnie Donaldson (4) najwyższy 56,7% wskaźnik zacieleń notował po przeniesieniu zarodków bardzo dobrej jakości, najniższy natomiast – 38,8% po przeniesieniu zarodków dostatecznej jakości. Tendencja ta była zachowana niezależnie od oceniających zarodki techników. Podobnego zdania jest Znaniecki (32), który wśród czynników pierwszoplanowych wymienia jakość zarodków. Lindner i Wright (31) z kolei donoszą o nieistotnej różnicy we wskaźniku ciąży pomiędzy zarodkami o jakości zadowalającej i dostatecznej.

Nieliczni autorzy (11, 27, 32) uzależniają wyniki zacieleń u biorczyń zarodków od jakości płynów (pożywek) używanych do krótkotrwałej hodowli i konserwacji zarodków. Z badań krajowych przeprowadzonych na dużej liczbowo grupie biorczyń wynika, że najlepsze wyniki zacieleń uzyskuje się w tych przypadkach, w których do hodowli i krótkotrwałej konserwacji zarodków używano profesjonalnych pożywek. Szczególne znaczenie przypisuje się w tym przypadku zachowaniu odpowiedniego składu mediów oraz właściwego pH (27).

Wpływ pożywek oraz techniki zamrażania może mieć także istotne znaczenie w odniesieniu do wyników zacieleń u biorczyń zarodków mrożonych. Z reguły lepsze wyniki zacieleń uzyskuje się stosując powolne tempo zamrażania oraz rozmrażania zarodków (11). Dotychczasowe badania wskazują, że wyniki zacieleń po transferze zarodków rozmrażanych metodą bezpośrednią są w nieznacznym stopniu gorsze od uzyskiwanych metodami tradycyjnymi (6). Z najnowszych badań Lee i wsp. (11) wynika, że lepsze wyniki zacieleń u biorczyń po przeniesieniu sztucznie hodowanych zarodków, mrożonych następnie metodą vitryfikacji względnie metodą wielostopniową, uzyskuje się stosując do kultury zarodków płyny (media), nie zawierające proteiny (PVA) wzbogacone o 20 egzogennej i endogennej aminokwasów. W odniesieniu do zarodków świeżych nieco lepsze rezultaty uzyskiwano w hodowlach zawierających syntetyczny płyn jajowodowy wzbogacony surowicą bydlęcą (BSA).

Równie ważny – choć w warunkach prawidłowej organizacji przenoszenia zarodków mniej prawdopodobny – jest właściwy stopień wzajemnego zsyn-

chronizowania cyklu rujowego u krów dawczyń i biorczyń. Ruję u samic w programie przenoszenia zarodków synchronizuje się przeważnie dwukrotną iniekcją naturalnej lub syntetycznej prostaglandyny, aplikowaną domięśniowo w 11 lub 14-dniowym odstępie. U samic w ten sposób przygotowywanych, ruje pojawiają się przeważnie w ciągu 2-3 dni. U pewnej grupy biorczyń jednak czas pomiędzy podaniem prostaglandyny, a pojawieniem się rui może być dłuższy. W rzeczywistości więc 7-dniowy zarodek może być wprowadzony do macicy biorczynie przygotowanej w niedostatecznym stopniu, w tym przypadku będącej np. w 4 lub 5 dni po rui. Następstwem powstałego w ten sposób tzw. asynchronu jest niedostosowanie do potrzeb zarodka wydzielanie progesteronu, odmienna sekrecja *endometrium*, w efekcie wysoka śmiertelność zarodka, zdarzająca się nawet po wprowadzeniu bardzo dobrych jakościowo zarodków (7, 13). Badania prowadzone w warunkach terenowych wskazują, że najwyższy wskaźnik zacielen dotyczy tych biorczyń, których stopień zsynchronizowania z cyklem rujowym dawczyń nie przekracza 36 godzin. Przy niezgodności większej niż 48 godzin, zacielenie jest wprawdzie możliwe, jednak wskaźnik ciąży ulegać może obniżeniu (3). Groźniejszy dla wyników zacielen jest tzw. ujemny asynchron tj. taki, w którym ruja u dawczynie znacznie wyprzedza jej wystąpienie u biorczynie (2, 13). Nieznaczny asynchron dodatni próbuje się wywoływać sztucznie podając biorczynom iniekcję prostaglandyny 12 godzin wcześniej niż dawczynom. Także podanie egzogenego progesteronu bezpośrednio po rui pozwala eliminować skutki ujemnego asynchronu i w efekcie zacielić biorczynie (5, 7, 14).

W warunkach prawidłowej selekcji, niewielki wpływ na wyniki zacielen ma odpowiedni wiek jałowic biorczyń zarodków. Ogólnie przyjmuje się, że na biorczynie najbardziej nadają się jałowice w wieku 14-20 miesięcy i ciężarze 320-380 kg. Parametry te są gwarancją prawidłowego rozwoju osobniczego oraz dobrego żywienia (28). Z kolei Znaniński (32) drastycznie pogarszanie się wskaźnika zacielen u samic używanych jako biorczynie zarodków dwu lub trzykrotnie tłumaczy ich starzeniem się. Tym niemniej dobre wyniki zacielen po przeniesieniu zarodków uzyskiwano także u krów pierwiastek i wieloródek, o ile samice nie wykazywały uprzednio zmian patologicznych w obrębie narządu rodowego. Z badań MacMilana i wsp. (14) wynika, że u krów są one kilka procent niższe niż u jałowic.

Pośród czynników drugoplanowych wymienia się sezonowe zmiany warunków świetlnych i żywieniowych. Shea i wsp. (26) donoszą o istotnych różnicach we wskaźniku ciąży u biorczyń w zależności od miesiąca, w którym dokonywano przeniesienia zarodka. W warunkach surowego klimatu kontynentalnego, najmniej ciąży uzyskiwano w miesią-

cach grudzień – luty, najwięcej w październiku i sierpniu. Fakt ten tłumaczyć można m.in. faktem, że w Stanach Zjednoczonych za biorczynie służą przeważnie jałowice mieszańce ras mięsnych, które cechuje wyrażona w różnym stopniu sezonowość w rozrodzie. W strefie klimatu umiarkowanego, ponad przeciętne wyniki zacielen uzyskiwano w miesiącach letnich i wczesnojesiennych, znacznie gorsze od średniej – w okresach wiosennego i zimowego przednówka (1, 29). Nie potwierdzają tego badania krajowe, w których najniższy wskaźnik ciąży u biorczyń przypadł na miesiące letnie (lipiec, sierpień). W miesiącach tych – także przy sztucznym unasienu krów – uzyskuje się najniższą skuteczność zacielen. Najwyższa skuteczność zacielen natomiast przypadła na miesiące styczeń – maj (32). W naszej szerokości geograficznej miesiące te cechuje stopniowe przedłużanie się dnia świetlnego oraz, co nie bez znaczenia, jednolity system karmienia krów.

Sezonowego wpływu na wyniki zacielen u biorczyń nie notuje się w odniesieniu do zacielen po przeniesieniu zarodków mrożonych (10). Obniżanie się skuteczności zacielen w porze letniej wiąże się z hipertermią środowiska matczyngo, w efekcie błędami procesu zapłodnienia, wywołanymi stresem cieplnym zaburzeniami hormonalnymi oraz podwyższoną śmiertelnością zarodkową w drugim tygodniu ciąży (24).

Niekorzystny wpływ niedożywienia biorczyń zarodków na wskaźnik zacielen jest nie kwestionowany (15). Równie niekorzystny wydaje się także wpływ nadmiernego karmienia samic. Mapletoft i wsp. (16) podają, że mniej zacielen uzyskiwano u biorczyń, których kondycję fizyczną (BCS – Body Condition Scoring) w pięciopunktowej skali oceniono na 2 i 5.

Niedociągnięciami organizacyjnymi wynikającymi ze znacznych różnic w utrzymaniu samic, a także niedostatecznego nadzoru, w tym złej obserwacji rui, tłumaczone są istotne różnice w skuteczności zacielen po przeniesieniu świeżych zarodków. Z obserwacji przeprowadzonych na Żuławach w sześciu różnych stadach, w których personel oborowy cechowała różna umiejętność wykrywania rui odsetek zacielen po przeniesieniu zarodków wynosił od 23,7 do 60% (32).

Znaczenie niedostatecznej organizacji przy wykrywaniu rui podkreślają także Munar i wsp. (18), którzy uważają, że tylko 65% jałowic zgłaszanych przez personel jako przejawiające ruję, nadaje się na biorczynie. Mniejszy wpływ na wyniki zacielen u biorczyń ma także róg macicy, do którego wprowadzany jest zarodek, głębokość wprowadzenia zarodka do rogu macicznego oraz rodzaj zastosowanego pistoletu (2, 32).

Ostatnio coraz częściej wskazuje się, że nawet u klinicznie zdrowych jałowic przeznaczonych na

biorczyń zarodków stwierdzić można zaburzenia metaboliczne, mogące negatywnie wpływać na ich płodność. Jak wynika z naszych wcześniejszych badań przeniesienie zarodka do macicy biorczyń rzadziej kończyło się ciążą u jałowic, u których stwierdzano obniżone stężenie białka całkowitego, azotu mocznikowego, albumin i beta karotenu w osoczu krwi, przy jednocześnie podwyższonym stężeniu bilirubiny całkowitej (9). Poglądu tego nie podzielają badacze japońscy (21), którzy nie stwierdzali istotnej zależności pomiędzy osoczym stężeniem beta karotenu, alfa tekoferolu oraz cholesterolu w dniu wprowadzenia zarodka do macicy biorczyń, a wynikami zacięń.

Z licznych badań wynika, że istotne znaczenie prognostyczne odnośnie do wyników zacięń u biorczyń zarodków może posiadać pomiar stężenia progesteronu w dniu wprowadzenia zarodka do macicy (9, 18, 24). Northey i wsp. (22) podają, że przy stężeniach progesteronu we krwi powyżej 2 ng/ml uzyskiwano znacznie wyższą efektywność transferu świeżych zarodków niż u biorczyń, u których zawartość progesteronu we krwi była niższa. Zależność tę potwierdzają Niemann i wsp. (20) w odniesieniu do zarodków mrożonych. Z kolei odmienny pogląd prezentują Payas i wsp. (23) oraz Jaśkowski i wsp. (9). Także z najnowszych badań Nishimury i wsp. (21) wynika, że stężenie progesteronu w dniu wprowadzania zarodków nie ma istotnego znaczenia praktycznego i nie nadaje się do selekcji jałowic przeznaczonych na biorczyń. Podzielone opinie dotyczą także zależności pomiędzy wymiarami klinicznie i ultrasonograficznie stwierdzanych struktur ciała żółtego, a wynikami zacięń u biorczyń zarodków (8, 9).

Piśmiennictwo

1. Bach S., Müller F.: Tierzucht. 40, 209, 1986.
2. Bielański A., Tischner M.: Biotechnologia rozrodu zwierząt gospodarskich, Universitas, Kraków, 1993.

3. Coleman D. A., Dailey R. A., Leffel R. E., Baker R. D.: J. Dairy Sci. 70, 858, 1987.
4. Donaldson L. E.: Vet. Rec. 118, 661, 1986.
5. Drost M., Tan H. S., MacMillan K. L., Thather E.: Theriogenology 31, 186, 1989.
6. Garcia J. F., Nogueira M. F. G., Pupim F., Pantano T., Visintin J. A.: Theriogenology 47, 268, 1997.
7. Geisert R. D., Fox T. C., Morgan G. L., Wells M. E., Wettemann R. P., Zavay M. T.: J. Reprod. Fert. 92, 475, 1991.
8. Jackson S. P., Forrest D. W., Bondioli K. R., Looney C. R.: J. Dairy Sci. 67, 355, 1989.
9. Jaśkowski J. M., Znaniecki R., Hutnikiewicz I. M., Sucharski M., Lewandowski Z.: Medycyna Wet. 50, 619, 1994.
10. Jaśkowski J. M., Znaniecki R., Zbylut J.: Bull. Inst. Vet. Pulawy, 40, 45, 1996.
11. Lee E. S., Okamoto Y., Yamashina H., Fukui Y.: Theriogenology 47, 350, 1997.
12. Lindner G. M., Wright W. Jr.: Theriogenology 20, 407, 1983.
13. Łukaszewska J., Hansel W.: J. Reprod. Fert. 59, 485, 1980.
14. MacMillan K. L., Taufel V. K., Hayman D. L.: New Zealand Embryo Transfer Workshop, Hamilton, 1, 34, 1994.
15. Mani A. U., Watson E. D., McKelvey W. A. C.: Theriogenology 41, 1673, 1994.
16. Mapletoft R. J., Lindsell C. E., Pawlyshyn V.: Theriogenology 25, 172, 1986.
17. Morstin J., Pakuła A., Gruszczyńska J.: Przegląd Hod. 61, 5, 1993.
18. Munar C. J., Nigro M. A.: Theriogenology 25, 1975, 1986.
19. Munyai L., Denniston R. S., Wiemer K. E., Price R. H., Humes P. E., Godke R. A.: Theriogenology 31, 231, 1989.
20. Niemann H., Sacher B., Elsaesser F.: Theriogenology 23, 631, 1985.
21. Nishimura K., Fujitani Y., Kasai K., Mayanagi A., Tanaka M., Utsumi K., Iritani A.: Theriogenology, 47, 147, 1997.
22. Northey D. L., Barnes F. L., Eyestone W. H., First N. L.: Theriogenology 23, 214, 1985.
23. Payas A. J., Broadbent P. J., Dolman D. F., Christie W. B.: Theriogenology 31, 238, 1989.
24. Putney D. J., Thather W. W., Drost M., Wright J. M., DeLorenzo M. A.: Theriogenology 30, 905, 1988.
25. Schneider U. I. J., Castelberry R. S., Griffin G. L.: Theriogenology 13, 73, 1980.
26. Shea B. F., Janzen R. E., McDeamand D. P.: Theriogenology 31, 186, 1984.
27. Vajta G., Holm P., Greve T., Callesen H.: Theriogenology 47, 286, 1997.
28. Wierzbowski S., Wierzchoś E.: Przegląd hod. 53, 6, 1985.
29. Wiese M., Wallenburg J.: Byd. Biul. Wet. 2, 9, 1992.
30. Wilmut I., Sales D. E., Ashworth C. J.: J. Reprod. Fert. 76, 851, 1986.
31. Wright J. M.: Theriogenology 15, 43, 1986.
32. Znaniecki R.: Czynniki określające powodzenie transferu zarodków u krów mlecznych na Żulawach Wiślanych. Praca dokt., AR Wrocław, 1995.

Adres autora: doc. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski, ul. Św. Trójcy 35/50, 85-224 Bydgoszcz

BORNSTEIN S., WALLGREN P.: Rozpoznanie serologiczne świerzbu wywołanego przez *Sarcoptes* u świń. (Serodiagnosis of sarcoptic mange in pigs). Vet. Rec. 141, 8-12, 1997(1)

Oceniono przydatność odczynu ELISA do wykrywania w surowicy świń przeciwciał dla *Sarcoptes scabiei*. Badaniom poddano 221 wolnych od patogenów zwierząt w trzech grupach wiekowych: 10-12 tyg., 16-20 tyg. oraz maciory) celem ustalenia wartości fizjologicznej (określonej na +3), oraz świń w 4 stadach zarażonych przez *S. scabiei*. Wyniki testu ELISA potwierdzano badaniem zeszkrobów skóry na obecność świerzbowca. W surowicach wszystkich zakażonych świń występowały przeciwciała dla *S. scabiei* wykrywalne w odczynie ELISA. Czulość odczynu ELISA wynosiła 87,8% zaś jego swoistość 99,5%.

G.

NEWCOMBE J. R.: Jednoróżna macica u dwóch kłaczy. (Uterus unicornis in two mares). Vet. Rec. 141, 21, 1997 (1)

Opisano dwa przypadki wrodzonej aplazji rogu macicznego u kłaczy. W jednym przypadku aplazji rogu macicznego towarzyszył brak jajnika. U jednej kłaczy w wieku 8 lat badaniem rutynowym wykonanym przed kryciem stwierdzono obecność jajników. Powtórne badanie przeprowadzone po 4 dniach potwierdziło wystąpienie owulacji, zaś w trakcie trzeciego badania (przed podaniem prostaglandyny) nie stwierdzono jednego rogu macicznego. Badanie ultrasonograficzne potwierdziło aplazję prawego rogu macicznego. W drugim przypadku badaniem palpacyjnym i ultrasonograficznym stwierdzono brak lewego jajnika i lewego rogu macicznego. Po podaniu prostaglandyny wystąpiła ruja i owulacja. Po kryciu kłacz zaszła w ciążę i urodziła w terminie.

G.