

Wpływ zaburzeń energetycznych na efektywność indukcji owulacji u klaczy

ANDRZEJ RAŚ, MONIKA LEŚNIK-STRZEŻEK

Zespół Rozrodu Zwierząt Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn

Raś A., Leśnik-Strzeżek M.

Influence of energy disturbances on the efficacy of induction of ovulation and fertility in mares

Summary

The aim of the study was to establish the correlation between energy balance disturbances and the effectiveness of the induction of ovulation in mares in foal heat. The investigation was carried out on 90 thoroughbred mares, which were divided in two groups on 45 animals: A – induced ovulation, B – spontaneous ovulation. During foal heat, concentrations of glucose, β -hydroxybutyrate and free fatty acids were determined. On the basis of their biochemical status mares were divided in two subgroups: with and without energy balance disturbances. At the follicle diameter of 40 mm the mares received either 40 μ g GnRH- analogue (buserelin) or 10 ml saline solution. Ovulation occurred within 48 hours in 31% mares with energy balance disturbances and 62.5% without energy balance disturbances ($p \leq 0.001$). Fertility performance was significantly higher in mares without energy balance disturbances ($p \leq 0.001$).

Keywords: mares, energy balance disturbances, ovulation

Warunkiem ekonomicznej opłacalności hodowli koni jest wysoka reprodukcja stad i dobra płodność pojedynczych klaczy. Dobrą płodnością cechują się te klacze, które w każdym roku dadzą zdrowe, dające się odchować źrebię. Na płodność klaczy obok cech osobniczych duży wpływ wywierają czynniki zewnętrzne oraz rytmy biologiczne (6, 8, 9, 21, 33).

Ginther (16) uważa, że wysoki odsetek zapłodnień występuje wówczas, kiedy inseminacja lub krycie naturalne następuje tuż przed owulacją, a czas między podaniem nasienia do dróg rodnych a owulacją jest jak najkrótszy. Określenie czasu owulacji u klaczy jest dla lekarzy weterynarii, zajmujących się kontrolą rozrodu, jednym z głównych zadań w czasie sezonu rozrodczego (4, 10, 11, 23, 28, 30, 31). Coraz większe znaczenie u klaczy hodowlanych ma hormonalna indukcja owulacji. Jej efekty w wielu przypadkach zależą od warunków żywieniowo-środowiskowych, w których utrzymywane są klacze, a także od ich kondycji (1, 7, 14, 15, 17, 22, 32).

Problematyka zaburzeń przemiany energetycznej była przedmiotem dokładnych badań u krów mlecznych, natomiast tematyka ta u klaczy stanowiła niewielkie zainteresowanie badaczy (5, 12, 13, 20, 26, 27, 29, 34, 35). Generalnie przyjmuje się, że zaburzenia energetyczne wywierają negatywny wpływ na płodność klaczy, nie jest natomiast w pełni wyjaśniony związek pomiędzy tymi zaburzeniami z przebiegiem

owulacji. Brak jest zupełnie badań nad wpływem zaburzeń energetycznych na efektywność hormonalnego indukowania owulacji u klaczy hodowlanych w rui źrebięcej.

Celem niniejszych badań było określenie wpływu zaburzeń energetycznych u klaczy w rui źrebięcej na efektywność hormonalnej indukcji owulacji i ich płodność.

Materiał i metody

Do badań użyto 90 klaczy rasy wielkopolskiej, w wieku 4-12 lat, o fizjologicznym przebiegu okresu poporodowego, będących w rui źrebięcej, które podzielono na dwie grupy po 45 sztuk: A – z indukowaną owulacją, oraz B – z owulacją spontaniczną. Zwierzęta doświadczalne wyselekcjonowano z grupy około 300 klaczy należących do stadnin Agencji Rolnej Skarbu Państwa w północno-wschodniej Polsce. W okresie zimowym klacze żywiono sianem, słomą i niewielką ilością owsa (ok. 1 kg dziennie). Miały one stały dostęp do wody i lizawek solnych. W okresie wiosenno-letnim klacze przebywały na pastwiskach z dostępem do wody i lizawek. Sporadycznie otrzymywały siano.

Klacje były obserwowane przez opiekunów i poddawane próbie ogierem w celu wykrycia początku rui. W przypadku wystąpienia jej zewnętrznych objawów codziennie badano je klinicznie i ultrasonograficznie aparatem Pie Medical 200 z sondą liniową 5 MHz, zwracając uwagę na wielkość pęcherzyka jajnikowego, jego konsystencję i tempo wzrostu oraz stan rozpulchnienia i konsystencję ściany

macy. W pierwszym dniu rui od każdej kłaczki pobierano krew do badań biochemicznych, oznaczając stężenie glukozy, kwasu β -hydroksymasłowego oraz wolnych kwasów tłuszczowych (WKT). Do oznaczania poziomu glukozy w krwi pełnej wykorzystano szybki test z użyciem aparatu Prestige Smart System (Quick Reference Card, Blood Glucose Test Procedura, FL PSS601 rev.4 USA), kwas β -hydroksymasłowy i WKT oznaczano w surowicy krwi metodą kinetyczno-enzymatyczną z wykorzystaniem testu enzymatycznego Ranbut. Na podstawie wyników tych badań kłaczki w obrębie grup A i B podzielono na 2 podgrupy – z zaburzeniami energetycznymi i bez zaburzeń.

Po osiągnięciu przez pęcherzyk średnicy 40 mm kłaczkom z grupy A podawano 40 μ g analogu GnRH – busareliny (Receptal® Intervet – 10 ml i.v.). Kłaczki z grupy B otrzymały 10 ml płynu fizjologicznego i.v. jako *placebo*. Wszystkie kłaczki były kryte naturalnie ogierem. W okresie 14-16 dni po owulacji przeprowadzono badanie kliniczne i ultrasonograficzne narządu rodowego w celu stwierdzenia ciąży.

Efektywność hormonalnej indukcji owulacji określono na podstawie jej wystąpienia do 48 godzin po iniekcji GnRH. Wyniki uzyskane w przeprowadzonym doświadczeniu opracowano statystycznie za pomocą jednostronnego testu α .

Wyniki i omówienie

Na podstawie badań parametrów biochemicznych krwi w grupie A wyodrębniono 29 kłaczek wykazujących zaburzenia energetyczne, charakteryzujące się niższą od normy zawartością glukozy, podwyższonymi wartościami kwasu β -hydroksymasłowego i WKT, oraz 16 kłaczek bez zaburzeń energetycznych, u których badane parametry były na poziomach fizjologicznych. Podobnie wynik ten kształtował się w grupie B (tab. 1). Istotność różnic w obrębie badanych parametrów u kłaczek z zaburzeniami energetycznymi i bez zaburzeń w obu grupach oraz wysoki odsetek (64,4%) kłaczek z zaburzeniami energetycznymi dowodzi żywienia niedoborowego pod względem energetycznym w badanych stadach.

W dostępnym piśmiennictwie niewiele jest danych na temat zaburzeń gospodarki energetycznej u kłaczek. Doreau i wsp. (13) stwierdzili występowanie zaburzeń energetycznych u 45-50% kłaczek po porodzie. Główną przyczynę tych zaburzeń upatruje się w niedoborowym pod względem energetycznym żywieniu kłaczek w ostatnich tygodniach ciąży oraz po porodzie, w momencie rozpoczęcia laktacji (12, 13, 15, 19, 20, 26, 35). Może to wpływać na stan kondycyjny, status energetyczny, potencjał rozrodczy oraz wrażliwość na hormonalną indukcję owulacji, zwłaszcza u kłaczek w rui żrebięcej (2).

W grupie A owulacja miała miejsce w ciągu 48 godzin po podaniu analogu GnRH u 9 (31%) kłaczek

Tab. 1. Parametry biochemiczne krwi kłaczki z owulacją indukowaną i spontaniczną bez zaburzeń i z zaburzeniami energetycznymi

Grupa	Status energetyczny kłaczki	Liczba kłaczki	Kwas β -hydroksymasłowy mmol/l	WKT mmol/l	Glukoza mmol/l
A Owulacja indukowana	z zaburzeniami energetycznymi	29	0,195 \pm 0,112 ^a	0,278 \pm 0,114 ^a	3,2 \pm 0,298 ^a
	bez zaburzeń energetycznych	16	0,147 \pm 0,042 ^b	0,164 \pm 0,067 ^b	4,7 \pm 0,348 ^b
B Owulacja spontaniczna	z zaburzeniami energetycznymi	29	0,215 \pm 0,044 ^a	0,247 \pm 0,120 ^a	3,1 \pm 0,195 ^a
	bez zaburzeń energetycznych	16	0,144 \pm 0,046 ^b	0,155 \pm 0,071 ^b	3,9 \pm 0,305 ^b

Objaśnienie: a, b – różnica statystycznie istotna ($p \leq 0,05$)

Tab. 2. Występowanie owulacji do 48 godzin po iniekcji i płodność kłaczki w grupach A i B

Grupa	Status energetyczny kłaczki	Liczba kłaczki	Owulacja do 48 h po iniekcji n (%)	Kłaczki zażrebione n (%)
A Owulacja indukowana	z zaburzeniami energetycznymi	29	9 (31,03) ^a	6 (20,7) ^a
	bez zaburzeń energetycznych	16	10 (62,5) ^b	12 (75,0) ^b
B Owulacja spontaniczna	z zaburzeniami energetycznymi	29	5 (17,24) ^a	4 (13,8) ^a
	bez zaburzeń energetycznych	16	8 (50,0) ^b	9 (56,25) ^b

Objaśnienie: a, b – różnica statystycznie istotna ($p \leq 0,001$)

z zaburzeniami energetycznymi. W przypadku kłaczki bez stwierdzonych zaburzeń energetycznych w ciągu 48 godzin owulacja wystąpiła u 10 sztuk (62,5%). Różnica między podgrupami była statystycznie istotna ($p \leq 0,001$).

W grupie ze spontaniczną owulacją (B) różnice między kłaczkami z zaburzeniami energetycznymi i bez zaburzeń były jeszcze bardziej widoczne. W ciągu 48 godzin od podania *placebo* owulację stwierdzono u 5 (17,2%) kłaczek z zaburzeniami, podczas gdy w tym czasie owulacja wystąpiła u 8 (50%) kłaczek bez zaburzeń ($p \leq 0,001$) (tab. 2).

Dane te świadczą o mniejszej efektywności indukowania owulacji u kłaczek z zaburzeniami energetycznymi niż w przypadku kłaczek z parametrami biochemicznymi w granicach norm. Według Stickera i wsp. (35) oraz Spicera i wsp. (34), niedobór energetyczny w okresie okołowulacyjnym prowadzi do obniżenia aktywności IGF1, który uważany jest za mediatora funkcji jajnikowych. W badaniach *in vitro* stwierdzono stymulacyjny wpływ tej cytokiny na produkcję estrogenów przez komórki ziarniste. Z kolei wysokie stężenie estrogenów wpływa stymulująco na uwalnianie GnRH z podwzgórza. Heidler i wsp. (19, 20) stwierdzili niższy poziom glukozy i leptyny u kłaczek karmiących żrebięta w porównaniu do kłaczek nie będących w laktacji. McManus i Fitzgerald (26) wykazali,

że niedobór energii u klaczy powoduje zmniejszenie sekrecji GnRH. W badaniach Gentry i wsp. (15) stwierdzono brak rui źrebicęcej i zaburzenia owulacji u klaczy wychudzonych, a także słabą reakcję pęcherzyków dominujących na podanie egzogenego GnRH u tych zwierząt. Barański (2) obserwował u klaczy w rui źrebicęcej, będących w złej kondycji, zaburzenia w inwolucji macicy i zwiększony odsetek stanów zapalnych błony śluzowej macicy.

W grupie z indukowaną owulacją zażrebiło się 75% klaczy bez zaburzeń, natomiast w grupie klaczy z zaburzeniami energetycznymi 20,7% ($p \leq 0,001$) (tab. 2). W przypadku zwierząt z owulacją spontaniczną odsetek zażrebień wynosił 13,8% u klaczy z zaburzeniami energetycznymi i 56,25% u klaczy bez zaburzeń ($p \leq 0,001$). Klacze o stabilnej gospodarce węglowodanowej poddane indukcji za pomocą analogu GnRH wykazały o ponad 18% lepszą zapłodnialność w stosunku do klaczy bez zaburzeń energetycznych z owulacją spontaniczną. U klaczy z zaburzeniami energetycznymi, u których indukowano owulację, uzyskano o ok. 7% lepszą zapłodnialność niż w analogicznej pod względem statusu energetycznego grupie z owulacją spontaniczną ($p \leq 0,001$). Uzyskane wyniki potwierdzają pogląd innych autorów (15, 18, 24, 25) o ujemnym wpływie niedoborów energetycznych na płodność klaczy.

Przeprowadzone badania wykazały, że u znacznego odsetka klaczy występują zaburzenia gospodarki energetycznej w okresie rui źrebicęcej. U klaczy z zaburzeniami energetycznymi efektywność hormonalnego indukowania owulacji jest istotnie niższa niż u zwierząt z prawidłowym stanem gospodarki energetycznej. Status energetyczny klaczy wywiera istotny wpływ na ich dalszą płodność. Przed kwalifikacją klaczy do krycia lub inseminacji, zwłaszcza drogim nasieniem najlepszych ogierów, powinno się uwzględnić oprócz stanu narządu rodno również kondycję i status energetyczny.

Piśmiennictwo

1. *Ae S.*: Klinische und endokrinologische Untersuchungen zur Ovulationsinduktion bei der Stute. Praca dokt., Leipzig 1995.
2. *Barański W.*: Stan zdrowotny macicy i płodność klaczy w rui źrebicęcej. Praca dokt., UWM, Olsztyn 2001.
3. *Barb C. R., Barret J. B., Kraeling R. R., Rampacek G. B.*: Role of leptin in modulating neuroendocrine function: a metabolic link between the brain-pituitary and adipose tissue. *Reprod. Dom. Anim.* 1999, 34, 111-126.
4. *Barb C. R., Karett J. B. K., Evans M. J., Irvine C. H. G.*: Induction of follicular development, maturation and ovulation by gonadotropin releasing hormone administration to acyclic mares. *Biol. Reprod. Fert. Suppl.* 1977, 16, 452-462.
5. *Beam S. W., Butler W. R.*: Effect of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 1999, 54, 411-424.
6. *Belling T. H.*: Reproduction in the mare. *Equine Pract.* 1989, 35, 13-18.
7. *Bergfeld D. R., Ginther O. J.*: Delayed follicular development and ovulation following inhibition of FSH with equine follicular fluid in the mare. *Theriogenology* 1985, 24, 99-108.
8. *Berliner V. R.*: The estrus cycle of the mare, [w:] Cole H. H., Capps P. T. (wyd.) *Reproduction in Domestic Animals*, t. I. Academic Press, New York 1959, 267-289.
9. *Bieleński A., Tischner M.*: Biotechnologia rozrodu zwierząt udomowionych. Drukpol S.C. Kraków 1998.
10. *Blanchard T. L., Varner D.*: Manipulating estrus in the mare: Part 1. *Vet. Med.* 1995, 2, 180-185.
11. *Carnevale E. M., McKinnon A. O., Squires E. L., Voxy J. L.*: Ultrasonographics of the preovulatory follicle preceding and during ovulation in mares. *Equine. Vet. Sci.* 1988, 8, 428-431.
12. *Christina J., McManus C. J., Barry P., Fitzgerald B. P.*: Effect of single day of feed restriction on changes in serum leptin, gonadotropins, prolactin and metabolites in aged and young mares. *Dom. Anim. Endocrinol.* 2000, 19, 1-13.
13. *Doreau M., Martin-Rosset W., Boulot S.*: Energy requirements and feeding of mares during lactation. *Livestock Prod. Sci.* 1988, 20, 53-68.
14. *Evans M. J., Irvine C. H. G.*: Induction of follicular development, maturation and ovulation by gonadotropin-releasing hormones administration to acyclic mares. *Biol. Reprod.* 1977, 16, 452-462.
15. *Gentry L. R., Thompson D. L., Gentry G. T., Davis K. A., Godke R. A., Cartmill J. A.*: The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. *J. Anim. Sci.* 2002, 80, 2695-2703.
16. *Ginther O. J.*: Characteristic of the ovulatory season. *Reprod. Biol. Mare* 1992, 22, 173-233.
17. *Ginther O. J., Bergfeld D. R.*: Effect of GnRH treatment during the anovulatory season on multiple ovulation rate and on follicular development during the ensuing pregnancy in mares. *J. Reprod. Fert.* 1990, 88, 119-126.
18. *Ginther O. J., Wentworth B. C.*: Effect of a synthetic gonadotropin-releasing hormone on plasma concentrations of luteinizing hormones in ponies. *Am. J. Vet. Res.* 1974, 35, 79-81.
19. *Heidler B., Parvizi N., Sauerwein H., Bruckmaier U., Heintges J. E., Aurich C.*: Effect of lactation on metabolic and reproductive hormones in Lipizzaner mares. *Dom. Anim. Endocrinology* 2003, 25, 47-59.
20. *Heidler B., Sauerwein H., Heintges U., Aurich J. E., Pohl W., Aurich C.*: Metabolic profiles and plasma leptin concentrations in lactating and non-lactating mares. *Theriogenology.* 2002, 58, 557-561.
21. *Hughes J. P., Stadenfeldt G. H., Evans J. W.*: Estrus and ovulation in the mare. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 1972, 161, 1367-1374.
22. *Johnson A. L., Becker S. E., Roma M. L.*: Effect of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F-2 α on corpus luteum function and timing of the subsequent ovulation in the mare. *J. Reprod. Fert.* 1988, 83, 545-551.
23. *Klug E., Andres E. F.*: Untersuchungen zur diagnostischen Terminierung des Ovulationszeitpunktes bei der Stute. *Prakt. Tierarzt.* 1987, 68, 28-32.
24. *Kreider J. L., Cornwell J. C., Godke R. A.*: Effect of Gn-RH on estrus, ovulation and fertility in the mare. *J. Anim. Sci.* 1976, 42, 263-264.
25. *McKinnon A. O., Vasey J. R., Lescun T. B.*: Repeated use of a GnRH analogue deslorelin (Ovuplant) for hastening ovulation in the transitional mare. *Equine. Vet. J.* 1997, 29, 153-155.
26. *McManus C. J., Fitzgerald B. P.*: Effect of single day feed restriction on changes in serum leptin, gonadotropins, prolactin and metabolites in aged and young mares. *Domest. Anim. Endor.* 2000, 19, 1-13.
27. *Meyer H.*: Pferdefütterung. wyd. 3. Parey Buchverlag, Berlin 1995.
28. *Palmer E.*: Control of the oestrus cycle of the mare. *J. Reprod. Fert.* 1998, 54, 495-505.
29. *Pennington J. A., Hill D. L., Callahan C. L., Brown C. M., Brown M. D.*: Effect of preinsemination injection of gonadotropin releasing hormone on reproductive performance of dairy cattle. *Bov. Practitioner* 1985, 20, 14-16.
30. *Pierson R. A., Ginther O. J.*: Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare. *Theriogenology* 1985, 24, 359-368.
31. *Pycocock J. F., Dieleman S., Drifflhouy P.*: Correlation of plasma concentrations of progesterone and estradiol with ultrasound characteristics of the uterus and duration of estrus behavior in the cyclic mare. *Reprod. Dom. Anim.* 1995, 30, 224-227.
32. *Schmit A.*: Untersuchungen zur Wirkung des GnRH- Analoges Deslorelin auf den Ovulationszeitpunkt sowie auf den Histomorphologischen Aufbau und die Östrogenrezeptorstruktur des Endometriums östrischer Stuten. Praca dokt. Tierärztl. Hochsch. Hannover 1993.
33. *Snow D. H., Mackenzi G.*: Effect of training on some metabolic changes associated with submaximal endurance exercise in the horse. *Equine Vet. J.* 1977, 9, 226.
34. *Spicer L. J., Tuckler W. B., Adams G. D.*: Insulin-like-growth Factor I in dairy cows: Relationship among energy balance, body condition, ovarian activity and estrus behavior. *J. Dairy Sci.* 1990, 73, 929-937.
35. *Sticker L. S., Thompson D. L., Bunting L. D., Fernandez J. M., Nadal M. R.*: Dietary protein and energy restriction in mares: rapid changes in plasma metabolite and hormone concentrations during dietary alteration. *J. Anim. Sci.* 1996, 74, 1326-1335.

Adres autora: dr hab. Andrzej Raś, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn; e-mail: ras_family@yahoo.com