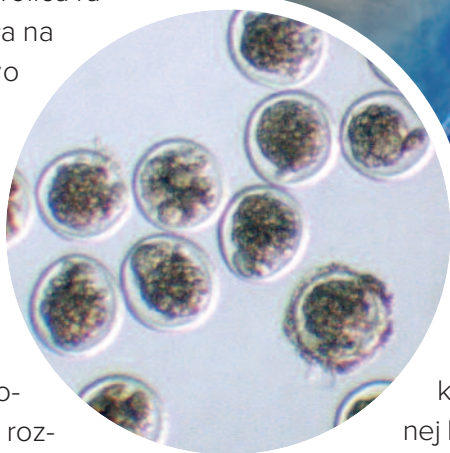
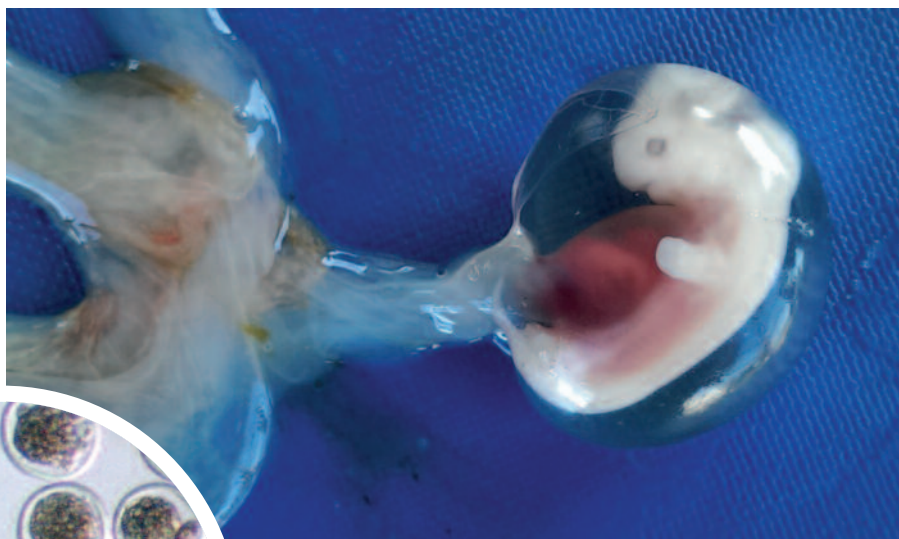


Co wpływa na efektywność embriotransferu?

Obserwowany w ostatnim półwieczu rozwój biotechnologicznych metod wsparcia rozrodu była jest jednym z najlepszych przykładów transferu technologii zakończonym sukcesem zarówno z punktu widzenia efektów genetycznych, jak i ekonomicznych. Pierwszą z nich była sztuczna inseminacja, kolejnymi transfer zarodków najpierw uzyskiwanych *in vivo*, a następnie metodą *in vitro*. Dalsze dokonanie nauki w zakresie biotechnologii zwierząt obejmowały między innymi seksowanie nasienia, transgenezę (modyfikacje genetyczne zwierząt) oraz klonowanie.

Chociaż większość stosowanych obecnie procedur związanych z przenoszeniem zarodków została opracowana w latach 70. i 80. minionego wieku to początki embriotransferu sięgają końca XIX wieku. W roku 1890 Walter Heape dokonał pierwszego skutecznego transferu zarodków u królików, w wyniku którego króliczka rasy belgijskiej wydała na świat potomstwo dwóch różnych ras, tzn. belgijskiej oraz angorskiej, której przedstawicielami były przenoszone zarodki. Sukces tego brytyjskiego zoologa i embriologa przyczynił się do rozwoju dziedziny, która obecnie stanowi ważny element pracy hodowlanej wykorzystywany w przypadku wielu gatunków zwierząt na całym świecie.



Embriotransfer (ET) jest techniką polegającą na przenoszeniu zarodków z macicy jednej krowy (dawczynie) do macicy innej (biorczynie). Obecnie metoda ta znajduje spore zastosowanie w praktyce i ma wiele zalet. Do najważniejszych z nich należą możliwość pozyskiwa-

nia większej liczby potomstwa od najlepszych z hodowlanego punktu widzenia krow niż w przypadku, gdyby chciano uzyskiwać je drogą naturalną (maksymalnie jedno cielę na rok, 8-10 cieląt w ciągu życia). Transfer zarodków pozwala na przyspieszenie postępu hodowlanego w stadzie, m.in. poprzez wykorzystanie zamrożonych zarodków pochodzących z czołowych, zagranicznych ośrodków hodowlanych.

Dodatkowo embriotransfer wiąże się ze stosunkowo niewielkim ryzykiem rozprzestrzeniania chorób, co stanowi jego szczególną zaletę. Niestety ET ma też pewne wady i ograniczenia. Podstawową wadą tego rozwiązania jest jego kosztowność, ponadto skuteczność samego zbiegu wahająca się w zależności od wielu czynników w przedziale 25-70% nadal pozostawia sporo do życzenia. W ramach niniejszego artykułu przyjrzymy się nieco czynnikom wpływającym na skuteczność embriotransferu u krów ze szczególnym wskazaniem na krowy mleczne.

Kluczowym elementem decydującym o efektywności biotransferu zarodków jest szeroko rozumiane zarządzanie. Istotnym jego elementem jest wybór właściwych krow na dawczynię i biorczynię embrionów. Krowy wybrane na dawczynię zarodków powinny cechować się wysoką wartością genetyczną (hodowlaną), być zdrowe z prawidłowo zbudowanym i funkcjonującym układem rozrodczym (regularny 18-24 dniowy cykl płciowy). Niewskazane jest przeniesienie zarodków od krow mających problemy zdrowotne w obrębie dróg rodnych. Takie zwierzęta przed przystąpieniem do procedury biotransferu powinny zostać wyleczone. Przed przystąpieniem do ET warto też wykonać badania w kierunku chorób takich jak BVD, leptospiroza, IBR, paratuberkuloza czy neosporoza oraz wykonać planowe szczepienia krow. Należy również zwrócić uwagę by nie pobierać zarodków wcześniej niż 60 dni po ostatnim porodzie. Jeśli na dawczynię typowane są krowy, warto zwrócić uwagę by były to zwierzęta, na których skuteczne zapłodnienie wystarczają

2 porcje nasienia, poprzednie cielęta rodziły się w interwałach około 365 dniowych i nie miały wcześniej problemów przy wycieleniu oraz nie obserwowano u nich zaburzeń płodności.



W przypadku biorczyń oprócz odpowiedniej jakości typowanych zwierząt należy zwrócić uwagę by była ich odpowiednia ilość (2-3 na jedną dawczynię). Podobnie jak w przypadku dawczyń muszą to być krowy o prawidłowo funkcjonującym układzie rozrodczym. Optymalna sytuacja ma miejsce wtedy, gdy biorczynię cechują się budową ciała zbliżoną do dawczyń lub są od nich większe. Ma to szczególne znaczenie w kontekście łatwości przyszłych porodów, a na uwadze mieć należy, że procedura embriotransferu nie należy od najtańszych i utrata cielęcia w momencie narodzin wiąże się ze znacznymi stratami finansowymi. Zaleca się również by biorczyniami były krowy o niższej wartości hodowlanej niż dawczynię, najlepiej w wieku 3-10 lat. Przypuszczalnie wyniki ET odzwierciedlają normalne funkcjonowanie rozrodu w stadach krow

mlecznych – wskaźnik zacielen w przypadku krow holsztyńskich spada o 0,5-1% każdego roku. Przemawiają za tym analizy przeprowadzone w trakcie przekładania zarodków świeżych, jak i mro-

zonych wskazujące, że lepszych efektów można spodziewać się, gdy biorczyniami są jałówki. Co prawda starsze krowy mogą być równie interesującymi biorczyniami, ale tam gdzie jest to możliwe zaleca się wybieranie młodszych zwierząt z dobrymi wynikami oceny układu rozrodczego.

Następnym czynnikiem decydującym o powodzeniu embriotransferu jest synchronizacja cykli płciowych biorczyń i dawczyń. Jest to istotne ze względu na to, że na różnych etapach cyklu macica cechuje się odmiennymi właściwościami, przez co nie zawsze stanowi idealne środowisko do implantacji i rozwoju zarodków w wyniku czego obumierają. Maksymalna dopuszczalna różnica w tym zakresie wynosi jeden dzień.

Kolejnym elementem mającym wpływ na skuteczność ET jest liczba owulujących komórek jajowych. W celu jej zwiększenia, czyli wywołania

tw. superowulacji wykorzystuje się obecnie, opracowane specjalnie w tym celu programy stymulacji hormonalnej. W wyniku iniekcji hormonów w okresie 8-12 dnia cyklu uzyskuje się zwiększoną liczbę owulujących komórek jajowych, w efekcie czego od dawczyni otrzymuje się zazwyczaj około 5-6 oocytów, choć zdarzają się przypadki, że uzyskuje się ich nawet 12. W przypadku zdrowych krów u około 85% (75-90%) z nich można spodziewać się pozytywnej reakcji w postaci zwiększonej liczby owulujących oocytów, jednocześnie nawet 20-30% krów może produkować zarodki nie nadające się do transferu. Korzystając z najnowszych programów owulacji u dawczyń można uzyskiwać co 40-60 dni a nawet częściej. Obecnie na świecie w wyniku superowulacji uzyskuje się około 750 tys. zarod-

ków rocznie, a ponad 450 tys. krążących po całym świecie zarodków uzyskuje się metodą *in vitro*.

Dla podniesienia skuteczności procedury należy pamiętać o wykorzystaniu większej ilości nasienia niż ma to miejsce standardowo. Zazwyczaj jest to od 2-3 do 5 porcji nasienia wysokiej klasy rozplodników. Zostały także opracowane specjalne procedury unasienia krów poddawanych superowulacji. Krowy takie unasieniać można według schematu 12, 24, 36 od początku rui stojącej obserwowanej po podaniu hormonów lub w oparciu o planowane, 2-3 krotne krycie ustalone w odniesieniu do terminu iniekcji wspomnianych substancji. W tym kontekście na uwagę zasługują doniesienia, że wykorzystanie nasienia wyższej jakości (zdolności do zapłodnienia) sprzyja uzyskaniu zarodków o lepszej jakości.

Kiedy dojdzie już do zapłodnienia należy zwrócić uwagę na czynnik jakim jest wybór prawidłowego momentu płukania zarodków. Najkorzystniejszym okresem do wykonania tej procedury jest czas, w którym zarodek znajduje się w stadium moruli lub wczesnej blastocysty (7-8 dzień) wcześniejsze lub późniejsze płukanie zarodków wiąże się z ryzykiem obniżonej skuteczności całej procedury. Po wyplukaniu zarodki podlegają ocenie. Ocena ta obejmuje dwa zasadnicze elementy, tzn. fazę rozwoju w skali 1-9, gdzie 1 oznacza niezapłodnioną komórkę jajową, a 9 jednokomórkowy embrion. Optymalna do transferu faza rozwoju ma miejsce w stadiach określanych jako 3-6, czyli wyżej wymienionych. Drugim elementem jest jakość oceniana w skali 1-4. Najlepszej jakości embriony otrzymują ocenę 1 i nadają się one do



Mazowieckie Centrum Hodowli i Rozrodu Zwierząt

Sp. z o.o. w Łowiczu

NOWOŚĆ



INDEX gPF
148

NH SLATAN

DE0770405754
SHEP x BALISTO x SUDAN

- Wysoka produkcja i doskonały skład mleka
- Idealny pokrój
- Świetna budowa i zdrowotność wymienia
- Długowieczne potomstwo

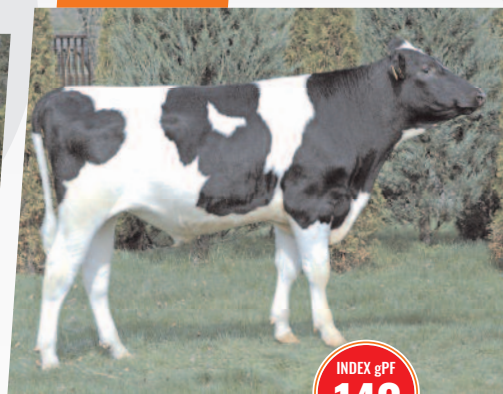


INDEX gPF
138

DEBO-BOSTON

PL005329808481
BATTLECRY x CHELIOS x BOLTON

- Doskonały pokrój
- Świetna budowa nóg i racic
- Wzorowa budowa i zdrowotność wymienia
- Optymalny skład mleka



INDEX gPF
143

BROKER ST

PL005406357819
BASTA x MOGUL x SHOTTLE

- Nr 2 wśród polskich buhajów
- Wybitna produkcja mleka
- Doskonała budowa i zdrowotność wymienia
- Długowieczne potomstwo

Mazowieckie Centrum Hodowli i Rozrodu Zwierząt Sp. z o.o. w Łowiczu

ul. Topolowa 49, 99-400 Łowicz • tel. (46) 830 06 70, tel./fax (46) 830 06 72 • e-mail: sekretariat@mchirz.pl • www.mchirz.pl

mrożenia, klasa jakości 2-3 informuje, o tym, że zarodki nadają się do transferu bezpośredniego, 4 oznacza z kolei embriony martwe lub zdegenerowane. Całość dokonywanej oceny jest oceną subiektywną, dlatego przy braku odpowiedniej wiedzy i/lub doświadczenia oceniającego wyniki transferu mogą być słabsze od zakładanych.

Innym czynnikiem decydującym o skuteczności ET jest prawidłowe wykonanie samego wyplukania zarodków oraz dalsze postępowanie z nimi, czyli prawidłowe zamrożenie w ciekłym azocie (-130 do 196°C), a następnie rozmrożenie oraz wprowadzenie do dróg rodnych biorczyni. Kluczowym elementem może okazać się również miejsce deponowania zarodków w macicy. Korzystniejszych wyników spodziewać można się, gdy wprowadzane są one do rogu macicy po tej stronie, po której stwierdzono obecność ciała żółtego na jajniku. Wydaje się to szczególnie istotne, zwłaszcza gdy są one niższej jakości (2-3 klasa). Wyniki badań wskazują, że najkorzystniejszym miejscem ich złożenia jest górna lub środkowa 1/3 część rogu macicy. Należy zwrócić uwagę by w trakcie wykonywania procedury nie uszkodzić śluzówki macicy biorczyni, gdyż wszelkiego rodzaju stany za-

palne czy jej uszkodzenia przyczyniają się do obniżenia skuteczności zabiegu. Istnieje ogólna zasada – krowy których płukanie przyniosło dobre wyniki, będą dawać dobre wyniki w przyszłości, natomiast te, które są pod tym względem słabe, również w przyszłości będą niezadawalające.

Jak już wspomniano wcześniej w zależności od jakości embrionów mogą być one przenoszone do macic biorczyń „na świeżo” (zaraz po ocenie), po schłodzeniu (na czas transportu) lub też podobnie jak nasienie mrożone i przeznaczone do późniejszego wykorzystania. W przypadku transferu niepoprzedzonego zamrażaniem zarodków ważnym elementem jest czas całej operacji. Embriony takie powinny być transferowane najszybciej jak to możliwe (najlepiej poniżej 8 godz.). Czas jest czynnikiem istotnym również w przypadku mrożenia zarodków. Przeprowadzone dotychczas badania wskazują, że krótszy okres oczekiwania na mrożenie sprzyja lepszej przeżywalności zarodków w jego trakcie. Na skuteczność ET wpływa również wybór techniki przenoszenia zarodków. Szacuje się, że w przypadku prawidłowo prowadzonej procedury przenoszenia zarodków świeżych skuteczność zabiegu rutynowo sięga 60-70%, z kolei mrożonych >50% (50-60%). Generalnie mrożenie i rozmrażanie powoduje spadek skuteczności w porównaniu z zarodkami świeżymi o 10-20%. W przypadku zarodków o niższej jakości, nie nadających się do mrożenia przeniesienie ich na świeżo jest czynnikiem podnoszącym skuteczność omawianej procedury.

W pierwszej części niniejszego artykułu przybliżono kilka kluczowych zagadnień wpływających na skuteczność embriotransferu z naciskiem położonym bezpośrednio na odpowiedni dobór zwierząt, ocenę zarodków, wybór optymalnej procedury. Niemniej jednak nie tylko te czynniki wpływają na skuteczność zabiegu przenoszenia zarodków. Literatura wskazuje również na inne, a wśród nich na selekcję w celu uzyskania coraz wyższej wydajności, ujemny bilans energii w początkowej fazie laktacji, stres środowiskowy wywołany np. zmianami hierarchii w stadzie, ale także mastitis, kulawizny oraz choroby infekcyjne mające wpływ na płodność zwierząt. Interesujące w tym zakresie są badania (Karasahin i wsp., 2014), które wskazują, że czynnikiem decydującym o skuteczności ET jest poziom spokrewnienia zwierząt. Według cytowanych badaczy poziom inbredu wynoszący 3% i więcej w przypadku krów holsztyńskich istotnie wpływa na obniżenie liczby transferowalnych embrionów. Oczywiście nie można tu,



WYPOSAŻENIE BUDYNKÓW INWENTARSKICH
 86-061 Brzoza Bydgoska, ul. Powstańców Wielkopolskich 14A
 tel.(52) 38 10 277, fax (52) 38 10 278, www.geneu.pl, e-mail:geneu@wp.pl

Sklep internetowy www.geneu.home.pl

 <p>POIDŁA DLA BYDŁA IZOLOWANE I PODGRZEWANE</p>	 <p>HALE DO MAGAZYNOWANIA</p>
 <p>MIKSER CIĄGNIKOWY</p>	 <p>MIKSERY PODRUSZTOWE</p>
 <p>ROZTRZĄSACZE DO SIANOKISZONKI</p>	 <p>MIESZACZE POWIETRZA</p>

• POIDŁA • WYGRODZENIA • KURTyny • POMPY DO GNOJOWICY

podobnie jak w przypadku inseminacji, zapomnieć o umiejętnościach osoby wykonującej zabieg.

Rozważając wpływ różnego rodzaju stresorów okresem kluczowym dla skuteczności zabiegu ET w odniesieniu do dawczyń wydaje się być już okres 4-6 miesięcy bezpośrednio poprzedzających pobranie zarodka, gdyż w tym czasie rozwija się pęcherzyk, który ostatecznie będzie owulował. Natomiast z punktu widzenia biorczyń jest to okres 6 tygodni po transferze, w trakcie którego dochodzi do implantacji zarodka. W kluczowym okresie, a zwłaszcza na 6 tygodni przed i po płukaniu zarodków nie można zapominać o prawidłowym żywieniu krów, zarówno biorczyń, jak i dawczyń. Krowy w tym okresie powinny cechować się kondycją 2,0-2,5 pkt BCS i być prowadzone w taki sposób by w kluczowym momencie wynosiła ona 3-4 pkt. BCS. Warto tu zwrócić również uwagę by ET nie dokonywać w początkowym okresie laktacji, kiedy u zwierząt obserwujemy ujemny bilans energii oraz nadmierne wychudzenie, dowiedziono bowiem, że słaba kondycja ujemnie wpływa na wskaźnik cielności notowany po przeprowadzeniu transferu zarodków.

Wpływ na skuteczność ET ma również pochodzenie zarodka. Zarodki pozyskane *in vivo* oraz przenoszone „na świeżo” gwarantują wyższą skuteczność omawianej procedury. Zasadniczo mrożone czy uzyskane w wyniku różnego rodzaju manipulacji embriony np. dzięki procedurze *in vitro*, będące wynikiem klonowania, czy poddane transgenezie będą przyczyniać się do uzyskiwania niższych wskaźników cielności u biorczyń.

W praktyce zaleca się też nieco późniejsze diagnozowanie ciąży u biorczyń (56 i 65 dniu) niż w przypadku krów unasienianych. Celem takiego działania jest uniknięcie rozczarowań związanych ze śmiercią zarodkową, a ponadto daje możliwość przewidzenia płci cielęcia rodzącego się w wyniku embriotransferu.

Podsumowując należy stwierdzić, że embriotransfer nie jest ani łatwą, ani taną metodą rozrodu krów. Z drugiej strony skuteczne wdrożenie tej techniki może zagwarantować nieprzeciętne rezultaty, nieporównywalne z żadną tradycyjną drogą służącą poprawie wartości hodowlanej i użytkowej stada. Wymaga ona jednak od zainteresowanych jej wykorzystaniem – z jednej strony sporej wiedzy i systematyczności – z drugiej stworzenia zwierzętom optymalnych warunków bytowania. ■

Literatura dostępna u autora

Linum⁺ plus

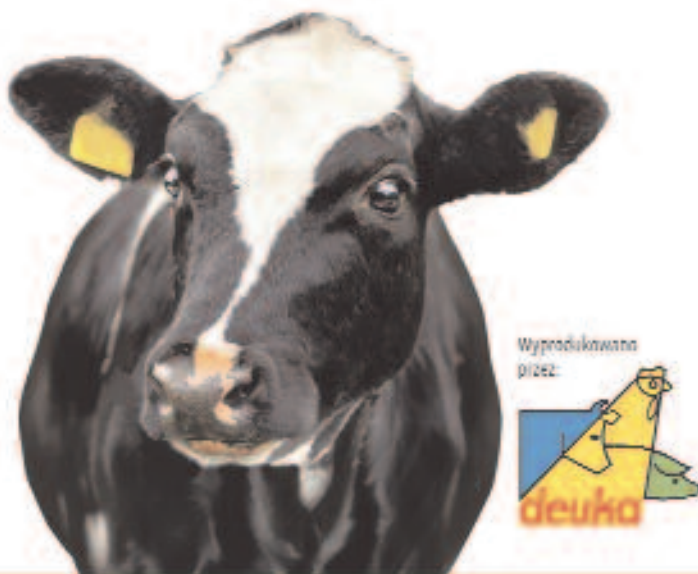
Płodność • Witalność • Produkcja

Ekstrudowana mieszanka paszowa uzupełniająca z ziarna lnu dla krów mlecznych i cieląt

- Pozytywnie wpływa na parametry mleka - skutecznie redukuje skutki ujemnego bilansu energetycznego u krów w pierwszej fazie laktacji
- Wspiera bezpieczny, wczesny i szybki rozwój przedzolaków u cieląt
- Zawiera podwyższony poziom kwasów tłuszczowych Omega-3, które:

mają **pozytywny wpływ na procesy reprodukcji bydła**

powodują **wyższą przeżywalność embrionów**, a tym samym **poprawę parametrów rozrodu**



Wyłączny dystrybutor w Polsce:

AMPOL-MEROL®
Pewny partner Twojego gospodarstwa

Ampol Merol Sp. z o.o.
ul. Mikołaja z Ryńska 28a, 87-200 Wąbrzeźno
tel. +48 56 688 48 12
tel. +48 56 688 48 16
www.ampol-merol.pl