

ISTRAŽIVANJE USPJEŠNOSTI SUPEROVULACIJE I SUPEROVULACIJSKOG ODGOVORA, TE BROJA DOBIVENIH ZAMETAKA I REZULTATA NJIHOVOG TRANSFERA U KRAVA I JUNICA

Z. Makek, M. Herak, M. Cergolj, D. Rudan, Melita Herak, Iva Barac-Getz, T. Vendl, Z. Tuček, I. Cerovečki, K. Mihatović, T. Dobranić

Sažetak

Istraživanja uspješnosti superovulacije i superovulacijskog odgovora te broja dobivenih zametaka kao i uspjeha transfera svježih i duboko zamrznutih i kasnije odmrznutih zametaka goveda izvodili smo u 35 plotkinja. Superovulaciju smo inducirali s pripravnicima SŽK (Folligon^R), odnosno FSH (Folltropin^R) u 27 plotkinja. Rezultate superovulacije i superovulacijski odgovor 7. dan poslije inducirane ovulacije i U.O.-a pratili smo rektalnom i ultrasonografskom pretragom jajnika (ALPHA ECHO CAMERA SSD-210, DX II s transrektalnom sondom od 5 MHz-a) te utvrdili 154 ($\bar{x} = 5,70 \pm 0,69$) žutih tijela. U 23 plotkinje isprali smo ukupno 15 zametaka, od kojih smo kao sposobne za transfer ocijenili 10 te smo jednoga odmah transferirali u odabranu primačicu. Ostalih 9 duboko smo smrznuli pomoću aparata za smrzavanje zametaka (LE NICOOBAC MS 21). Nakon određenog vremena zametke smo odmrznuli i nakon ponovne ocjene 7 zametaka smo transferirali u 7 sinkroniziranih primačica. U 3 primačice pojavio se opet estrus 25. dan, u jedne 30. dan, a u 3 primačice 35. dana od prethodnog estrusa, dok smo u jedne 34. dan ultrazvučno utvrdili gravidnost.

Uvod

Multipla ovulacija i embriotransfer (MOET) su biotehnoški postupci kojima se postiže bolja kvaliteta stada i pasmina, povećanje broja potomaka po životinji od genetski vrijednih krava, ubrzanje postupka progenog testiranja muških potomaka, mogućnost da slabo plodne ili neplodne junice ili krave mogu imati potomstvo i drugo.

*Ovaj rad je izrađen u okviru projekta "Embriotransfer u goveda", broj 3-03-480 Ministarstva znanosti i tehnologije Republike Hrvatske

Dr. sc. Zdenko Makek, izvanredni profesor; dr. sc. Miroslav Herak, redovni profesor; dr. sc. Marijan Cergolj, docent, Veterinarski fakultet, Zagreb; dr. sc. Damir Rudan, Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske; dr. sc. Melita Herak, redovni profesor; Iva Barac-Getz, znanstveni novak, Veterinarski fakultet, Zagreb; Tomislav Vendl, PIK Vrbovec, Govedarska farma Poljanski Lug; Zvonko Tuček, "Zdenka", farma muznih krava, Veliki Zdenci; mr. sc. Ivica Cerovečki, PIK Vrbovec, Govedarska farma Poljanski Lug; Krešimir Mihatović, Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske i mr. sc. Tomislav Dobranić, asistent, Veterinarski fakultet, Zagreb.

Prvo rođenje teleta postupkom transfera duboko smrznutog zametka (Wilmuth i Rowson, 1973.; cit. Thonon i sur. 1994.) dalo je konačan poticaj za daljnju primjenu embriotransfera.

Duboko smrzavanje zametaka goveda danas je u praksi u velikoj mjeri izmijenilo program embriotransfera. Pošto se superovulacijom dobiva različiti broj jajnih stanica, može se višak zametaka (koji se odmah ne transferiraju) duboko smrznuti i sačuvati. Niemann (1991.) navodi da razina preživljavanja smrznutih zametaka nakon odmrzavanja može biti 90 - do 100%, a nakon transfera tih zametaka postignuta je koncepcija od 50 do 60%, što je gotovo razina koncepcije kao i kod transfera svježih zametaka. Stoga je duboko smrzavanje goveđih zametaka otvorilo nove mogućnosti trgovine najkvalitetnijim pasminama goveda u svjetskim razmjerima. Također postoji mogućnost pričuve gena pomoću duboko smrznutih zametaka kao npr. čuvanje genetskog materijala izumirajućih ili ugroženih te autohtonih pasmina goveda.

U okviru MOET (multipla ovulacija i embriotransfer) programa i in vitro oplodnje jajnih stanica može se izvoditi mikromanipulacija zametcima, kao što je splitting (presjecanje zametka), određivanje spola te kloniranje. Provođenje MOET programa unaprijeđuje razvoj govedarstva, a prema tome otvara mogućnosti novih radnih mjesta za veterinare.

Što se tiče sadašnjeg stanja MOET-a kod goveda u Hrvatskoj nema podataka o provođenju tog postupka, osim što Mikulić i sur. (1986.) navode da su u suradnji sa stručnom grupom Besamungvereina Neustadt/Aisch-a transferirali u sinhronizirane junice duboko smrznute zametke, ali koje je ta stručna grupa donijela iz Neustadt/Aisch-a.

Ponukani takvim stanjem MOET-a u Hrvatskoj odlučili smo istražiti različite postupke superovulacije i superovulacijskog odgovora te dobiti zametke goveda, a zatim ih transferirati svježe ili ih duboko smrznuti te nakon određenog vremena odmrznuti i transferirati u pripremljene primačice.

Materijal i metode

Istraživanja multiple ovulacije i embriotransfera (MOET) obavili smo u 35 plotkinja (21 krava i 14 junica) u dobi od jedne do 12 godina, koje su bile u tipu simentalca odnosno holštajnske pasmine, a potjecale su iz seljačkih domaćinstava i dvije govedarske farme. Zbog financijskih poteškoća imali smo ograničene mogućnosti pri odabiru tih plotkinja tako da nismo mogli odabrati reprodukcijски najkvalitetnije životinje. Sve odabrane plotkinje bile su dobrog zdravstvenog stanja s urednim spolnim ciklusom, nisu bile posebno pripremane niti sinhronizirane za embriotransfer, nego je svaka plotkinja bila zasebno praćena i tretirana za superovulaciju.

Superovulaciju smo inducirali na dva načina s pomoću Folligon^R-a i Folltropin^R-a u 27 plotkinja.

I. Indukacija superovulacije primjenom Folligon^R-a:

U 8 junica aplicirali smo i.m. 2000 i.j. Folligon^R-a (Werft-Chemie Austria; 1 ampula sadrži 1000 i.j. serum gonadotropina u liofoliziranom stanju s konzervansom)

te u 12 krava 2500 i.j. Folligon^R-a 9. ili 10. dana poslije estrusa kada smo ginekološkim i ultrazvučnim pregledom utvrdili žuto tijelo na jajniku. Nakon 48 sati krave i junice primile su i.m. još 2 ml (800 µg) Cloprosin-a-g (Krka, Novo Mesto, Slovenija; 1 ml sadrži 400 µg sintetičkog analoga prostaglandina PgF₂ α), a 72 sata nakon toga ako je bio utvrđen estrus sa superovulacijom, umjetno su osjemenjene.

II. Indukcija superovulacije primjenom Folltropin^R-a:

U 7 plotkinja, 5 junica i 2 krave, inducirali smo superovulaciju Folltropin^R-om (Vetrepharma inc. London, Ontario Canada; 1 bočica od 20 ml sadrži 20 mg liofiliziranog svinjskog FSH. Kada se otopi u diluentu 1 ml sadrži 1 mg FSH, a 20 mg FSH odgovara aktivnosti od 35 mg NIH standarda FSH-a) 9. ili 10. dana poslije estrusa kada smo utvrdili žuto tijelo na jajniku ginekološkom pretragom i ultrasonografijom. Tijekom 4 dana aplicirali smo i.m. dva puta dnevno u razmaku od 12 sati po 2,5 ml (4,4 mg) Folltropin^R-a, a treći dan uz Folltropin^R aplicirano je poslije podne i.m. 2 ml (800 µg) Cloprosin-G. Dvadeset i četiri sata poslije zadnje aplikacije Folltropin^R-a, odnosno 48 sati nakon aplikacije Cloprosin-G plotkinje smo pregledali kako bi utvrdili superovulaciju i umjetno smo ih osjemenili. Svih 27 plotkinja umjetno smo osjemenili 4 puta u razmaku od 12 sati sa spermom bikova dokazane plodnosti, a 7. dan poslije inducirane superovulacije nakon ginekološkog i ultrazvučnog pregleda ispirali smo zametke u 23 plotkinje, jer kod 4 nismo utvrdili na jajnicima niti jedno žuto tijelo.

Cijeli tijek postupka superovulacije (utvrđivanje žutog tijela 9. ili 10. dana ciklusa, induciranje superovulacije i superovulacijski odgovor 7. dana poslije superovulacije) praćen je rektalno i ultrazvučno (ALOHA ECHO CAMERA SSD-210, DX II transrektalnom sondom od 5 MHz-a).

Ispiranje smo proveli s PBS medijem IMV (Instruments de Medicine Veterinaire, L,Aigle France) i kateterom za ispiranje (IMV). Svaki uterusni rog ispiran je s 500 ml PBS medija koji je staklenom brizgalicom od 50 ml kroz kateter apliciran u maternicu i odmah ispuštan van ili je ispiranje obavljano zatvorenim sistemom gravitacija-infuzija. Ispirak maternice sakupljen je u staklenu posudu i držan na embriotermu na temperaturi od 37°C. Poslije taloženja, ispirak je pregledavan lupom uz povećanje od 10 do 50 puta i na taj način pronađeno je 15 zametaka. Kao dobre ocijenili smo 10 zametaka (slika 1) prema shemi IETS-a, dok je 5 bilo loše kvalitete te ih nismo uzeli u postupak embriotransfera.

Od tih 10 dobro ocijenjenih zametaka, jedan smo odmah uvukli s medijem (IMV) u mikro pajetu (IMV) i transferirali u kranijalni dio ipsilateralnog roga maternice primačice (krava holštajnske pasmine). Duboko smo smrznuli 9 zametaka. Za sakupljanje i duboko smrzavanje zametaka upotrijebili smo gotove medije i mikropajete (IMV). Prije dubokog smrzavanja zametke smo 3 do 5 puta isprali u PBS mediju. Nakon toga smo ih prebacili u PBS medij za smrzavanje koji sadrži 10% glicerola i navukli u mikropajete (IMV) tako da se zametak nalazio u mediju između 2 mjehurića zraka. Napunjenu pajetu začepili smo i položili na pomični stalak za smrzavanje prethodno ohlađenog aparata za smrzavanje zametaka (LE NICOOLBAC MS 21). Snižavanje temperature u aparatu je programirano i odvija se automatski po 0,3°C u minuti, sve do temperature od -30°C. Nakon toga pajete

smo smrznuli na -196°C uranjanjem u tekući dušik. Ovako smrznute pajete pohranili smo u kontejner s tekućim dušikom.

Prije transfera u primačice pajete s duboko smrznutim zametcima izvadili smo iz tekućeg dušika i brzo uronili u vodu temperature 37°C . Nakon 30 sekundi pajetu smo izvadili i protresli kako bi se mjehurići zraka izdvojili na površinu. Tada smo skinuli čep i ispustili zametak u medij za transfer (IMV). Nakon uklanjanja krioprotektora i ocjene odbacili smo dva zametka koji nisu bili sposobni za transfer, a 7 zametaka ponovno smo uvukli u pajete te ih pojedinačno pomoću pistoleta za transfer zametaka (IMV) transferirali u kranijalni dio ipsilateralnog roga maternice. Za primačice smo odabrali 6 krava holštajnske pasmine i jednu junicu tipa simentalca. Kod tih životinja prošlo je 7 dana od prirodnog estrusa. Rezultate transfera zametaka u primačice kontrolirali smo ginekološkom pretragom (vaginalno i rektalno) u svih plotkinja, a u 4 primačice i ultrasonografijom.

Rezultati i diskusija

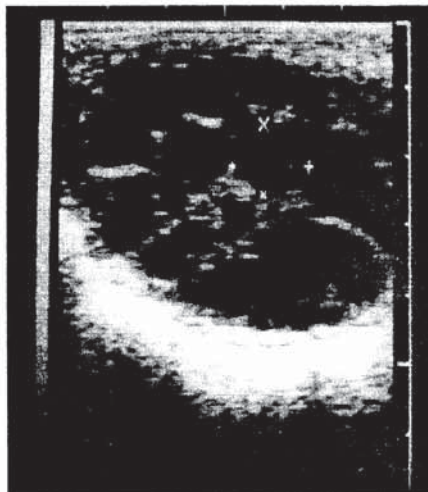
Superovulacija (ehogram 1) je još uvijek najvažniji čimbenik koji utječe na dobivanje zametaka, a njezin uspjeh mjeri se brojem žutih tijela, brojem ispranih zametaka te brojem zametaka valjanih za transfer u primačice. Stoga smo superovulacijski odgovor na jajnicima 27 plotkinja pratili ginekološkom i ultrazvučnom pretragom 7. dan poslije inducirane superovulacije, odnosno na dan ispiranja zametaka. Naročitu pažnju obratili smo na utvrđivanje broja žutih tijela ultrazvučnom pretragom (ehogram 2) što je u skladu s istraživanjima Piersona i Ginthera (1988.), Botza (1991.) te Arie i sur. (1992.) koji smatraju da ehografija jajnika u vrijeme ispiranja zametka određivanjem broja žutih tijela, a time i broja ovuliranih folikula može dati maksimalni broj sakupljenih zametaka.

Ukupno smo dijagnosticirali 154 ($\bar{x} = 5,70 \pm 0,69$) žutih tijela, dok u 4 plotkinje nismo našli niti jedno žuto tijelo. Zabilježili smo najmanje 2, a najviše 14 žutih tijela po plotkinji. Ovakav rezultat pokazuje da je reakcija na superovulacijski postupak nepredvidiva, što su zamijetili Guay i Bedoya (1981.), Kačmarik i sur. (1987.), Mapletoft i sur. (1988.), Wu i sur. (1988.) te Purwantara i sur. (1994.). Oni su također inducirali superovulaciju Folligon^R-om, odnosno Folltropin^R-om i utvrdili rektalnom i ultrazvučnom pretragom, odnosno laparoskopijom i pretragom jajnika nakon klanja različite superovulacijske odgovore, od 2 pa sve do 22,9 žutih tijela po plotkinji. Ako usporedimo prosječan broj žutih tijela po plotkinji, onda je naš rezultat nešto slabiji od rezultata navedenih autora.

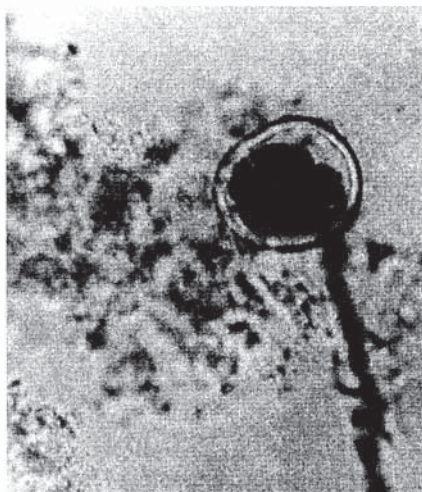
Tab. 1. - PROSJEČNI BROJ ZAMETAKA DOBIVEN RAZLIČITIM PRIPRAVCIMA ZA INDUKCIJU SUPEROVULACIJE

Indukcija superovulacije	Ukupni broj		Prosječni broj zametaka
	Dobivenih zametaka	Ispranih davačica	
I Folligon ^R	2	16	0,12
II Folltropin ^R	13	7	1,86
Ukupno (I+II)	15	23	0,65

Z. Makek i sur.: Istraživanje uspješnosti superovulacije i superovulacijskog odgovora, te broja dobivenih zametaka i rezultata njihovog transfera u krava i junica



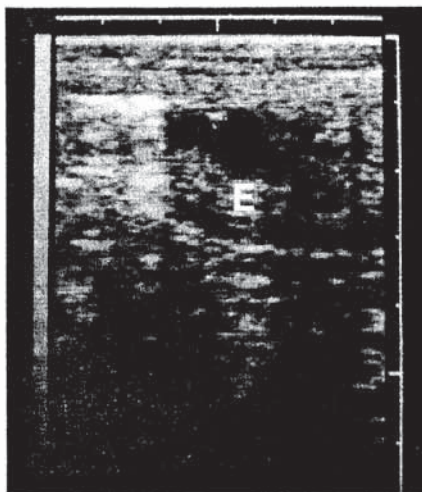
Ehogram 1:
Superovulacija: 4. dan poslije prve aplikacije Folltropin[®]-a.
Echogram 1:
Superovulation: Day 4 following the first application of the Folltropin[®]; mark (x) denotes the boundaries of a follicle.



Slika 1.:
Morula 7. dan - zametak sposoban za transfer.
Figure 1:
Bovine morula on Day 7 - the transferrable embryo.



Ehogram 2:
Superovulacijski odgovor: žuta tijela nastala na mjestu folikula 7. dan poslije superovulacije (označena strelicama).
Echogram 2:
Superovulatory response: corpora lutea on Day 7 following superovulation (outlined by arrows).



Ehogram 3:
Graviditet 34 dana poslije transfera svježeg zametka. E = embrij.
Echogram 3:
Pregnancy established 34 days after fresh embryo transfer. E = embryo.

Dobiveni rezultati od 0,65 zametaka po plotkinji (tablica 1) u usporedbi s rezultatima drugih autora vrlo su slabi. S Folligon^R-om dobili smo samo 0,12 zametaka po plotkinji. Gonzalez i sur. (1990.) tvrde da gonadotropini u serumu ždrebni kobilica (SŽK - Folligon^R) imaju relativno izraženo i LH djelovanje koje djeluje inhibirajuće na superovulacijski odgovor. Također spominju i štetni učinak predoziranja SŽK u indukciji superovulacije. Boland i sur. (1991.) navode da je primjena SŽK bila povezana s velikim brojem neovuliranih folikula zbog njegovog dugog poluživota u krvi, dok FSH preparati sa svojim kraćim poluživotom ukoliko se daju češće rezultiraju jednakim brojem ovulacija, no općenito daju "bolju" reakciju jajnika što se očituje manjim folikulima i većim brojem zametaka sposobnih za transfer. Danas se superovulacija uglavnom inducira s pripravcima FSH (Folltropin) u kojima je znatno smanjeno biološko djelovanje LH.

Primjenom Folltropin^R-a dobili smo 1,86 zametaka po plotkinji (tablica 1). Malpletoft i sur. (1988.) s ukupnom dozom Folltropin^R-a od 5 do 40 mg dobili su od 0,8 do 6,3, a s ukupnom dozom od 20 mg (doza Folltropin^R-a koju smo i mi upotrebljavali) 6,8 zametaka. Wu i sur. (1988.) različitim dozama Folltropin^R-a postižu od 4,5 do 7,7, a dozom od 20 mg 9,9 zametaka. Gonzalez i sur. (1990.) s dozama od 5 do 40 mg Folltropin^R-a ispiru od 1,3 do 8,9, a s dozom od 20 mg 6,1 zametak. Purwantara i sur. (1994.) s različitim dozama Folltropin^R-a polučuju 4,9 do 5,2 zametka po plotkinji.

Boland i sur. (1991.) tvrde da je jedan od glavnih problema superovulacije široka varijabilnost ovulacijskog odgovora s relativno visokim udjelom životinja kod kojih se ne uspije dobiti niti jedan zametak sposoban za transfer. Budući da zbog financijskih mogućnosti nismo mogli izabrati najbolje plotkinje smatramo da je i to jedan od razloga slabih rezultata dobivanja zametaka.

Ukupno smo transferirali 7 duboko smrznutih zametaka u 7 primačica. U 3 primačice pojavio se opet estrus 25. dan, a u jedne 30 dana od prethodnog estrusa. Prema navodima Sreenan i Diskina (1986.) i cit. Kastelic i sur. (1991.) pojava i vrijeme embrionalne smrtnosti veoma se razlikuje te smatraju da se najvećim dijelom događa između 15. i 18. dana nakon estrusa. Kastelic i sur. (1991.) tvrde da se ultrazvučnom pretragom do 22. dana (19. do 27. dana) ne mogu utvrditi otkucaji srca te se većina embrionalnih smrtnosti vjerojatno događa prije nego se ultrazvučno može utvrditi iktus embrija. U 3 primačice nije bilo znakova estrusa nakon 35 dana od prethodnog estrusa. Kod dvije od tih primačica nismo utvrdili graviditet rektalnom i ultrazvučnom pretragom, dok smo u jedne primačice rektalnom pretragom utvrdili žuto tijelo na desnom jajniku i neznatnu asimetriju desnog roga maternice. Ultrazvučnom pretragom zamijetili smo nepravilno ehogenično područje pri vrhu roga maternice, što je donekle u skladu s istraživanjima Kastelica i sur. (1991.) koji su u junica kod kojih je smrt embrija prethodila lutealnoj regresiji utvrdili ehografijom degeneraciju zametka, premda su naizgled bile sačuvane plodove vode i tkivo embrija. U jednu primačicu kod koje je prošlo 7 dana od prirodnog estrusa transferirali smo zametak odmah nakon ispiranja. Nakon 27 dana od transfera zametka starog 7 dana, ginekološkom i ultrazvučnom pretragom utvrđen je graviditet (ehogram 3). Ponovnim pregledom nakon 18 dana nismo više dijagnosticirali gravidnost. Wilson i Zalesky (1988.) utvrdili su 25. dan poslije embriotransfera 18% plodovih mjehura koji nisu bili

prisutni kod ponovnog pregleda 39. dan. Za razliku od toga kod umjetno osjemenjenih krava 25. dan dijagnostificirali su 8% plodovih mjehura koji se nisu mogli ultrazvučno potvrditi 39. dan.

Premda smatramo da je posrijedi embrionalna smrtnost, rezultati naših istraživanja transfera zametaka ne mogu nas zadovoljiti jer Cseh (1986.) tvrdi da je postotak gravidnosti poslije transfera duboko smrznutih embrija 40 do 60, Nelson i sur. (1988.) 61, Hauschulte (1988) 24,2 do 47,0, dok Richard i sur. (1988.) navode 33 do 45% gravidnih primačica. Još bolji rezultati postižu se transferom svježih zametaka.

Zaključak

1. Postupkom superovulacije utvrdili smo bolji učinak s Folltropin^R-om nego s Folligon^R-om.
2. Ispiranjem dayačica ukupno smo dobili 0,65 zametaka po plotkinji i to primjenom Folltropin^R-a 1,85, a Folligon^R-a 0,12 zametaka.
3. Rezultati transfera zametaka nisu bili zadovoljavajući.

LITERATURA

1. Aria, G., R. Fruzzeti, Silvia Leveroni-Calvi (1993): Aspetti pratico applicativi del monitoraggio clinico, ecografico ed endocrino dell'attivita ovarica in corso di superovulazione nella bovina de carne. Annali della Facolta di Medicina Veterinaria di Pisa XLV.
2. Boland, M.R., D. Goulding, J.F. Roche (1991): Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. Theriogenology 35(1) 5-17.
3. Botz, R. (1991): Untersuchungen zur Verbesserung der Auswahl von Spendentieren fur den Embryotransfer beim Rind mit Hilfe der Sonographie. Inaugural - Dissertation. Hannover.
4. Cseh S. (1986): Duboko zamrzavanje govedih embriona. III Jugoslavenski kongres za razmnožavanje i uzgoj životinja (Umag 12.-14.03.1986). Zbornik radova Vol. I, 201-206.
5. Gonzalez, A., J.G. Lussier, T.D. Carruthers, B.D. Murphy, R.J. Mapletoft (1990): Superovulation of beef heifers with Folltropin: a new FSH preparation containing reduced LH activity. Theriogenology 33:519-529.
6. Guay, P., M. Bedoya (1981): A study of the equivalence between rectal palpation, laparoscopy, laparotomy and ovarian dissection for evaluation of the ovarian response of PMSG-superovulated cows. Can. Vet. J. 22, 353-355.
7. Hauschulte, H.M. (1988): Einfluss der Ausverdünnungsmethode auf den Graviditätserfolg nach Transfer kryokonservierter Rinderembryonen. Inaugural Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinarmedizin der Justus-Liebig-Universität Giessen.
8. Kačmarik J., P. Gamčik, J. Pošivak, V. David, P. Hruškova, E. Piešova (1987): Superovulacia po aplikaciji PMSG u krav rozných plemien. Veterinarni Medicina 32 (LX), 577-586.
9. Kastelic, J.P., D.L. Northey, O.J. Ginther (1991): Spontaneous embryonic death on days 20 to 40 in heifers. Theriogenology 35(2) 351-363.
10. Mapletoft, R.J., A. Gonzales, J.G. Lussier, B.D. Murphy, T.D. Carruthers (1988): Superovulation of beef heifers with folltropin or FSH-P. Theriogenology 29(1) 274.
11. Mikulić, B., B. Šimunić, K. Abram (1986): Naša prva iskustva i rezultati sa transferom duboko smrznutih embrija u goveda. III Jugoslavenski kongres za razmnožavanje i uzgoj životinja (Umag 12.-14. 03. 1986.). Zbornik radova vol I, 157- 162.
12. Nelson C.F., L.D. Nelson (1988): Cryopreservation of 7 to 9 day bovine embryos. Theriogenology 29(1) 281.
13. Niemann, H. (1991): Cryopreservation of ova and embryos from livestock: current status and research needs. Theriogenology 35(1) 109-134.

14. Pierson, R.A., O.J. Ginther (1988): Ultrasonoc imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology* 29(1) 21-37.
15. Purwantara, B., M. Schmidt, H. Callesen, T. Greve (1994): Follicular Development and Embryo Recovery Following 3 versus 8 FSH Injections in Heifers. *Acta vet. scand* 35, 89-92.
16. Richards D.W., J.D. Sikes, C.N. Murphy (1988): Nonsurgical transfer and the survival of frozen. Thawed bovine embryos supplemented with raffinose. *Theriogenology* 29(1) 295.
17. Thonon, F., F.J. Ectors, A. Delval, H. Lens, K. Touati, J.F. Beckers, F. Ectors (1994): Le point sur la production d'embryons bovins in vitro: limitations et perspectives de la recherche. *Ann. Med. Vet.* 138, 33-40.
18. Wilson, J.M., D.D. Zalesky (1988): Early pregnancy determination in the bovine utilizing ultrasonography. *Theriogenology* 29(1) 330.
19. Wu M., H. Wang, B.D. Murphy, R.J. Mapletoft (1988): Superovulation of beef cows with Folltropin: a dose trial. *Theriogenology* 29(1) 332.

INVESTIGATION ON THE EFFICIENCY OF THE SUPEROVULATION AND SUPEROVULATORY RESPONSE AND THE NUMBER OF RECOVERED EMBRYOS AND THE RESULTS OF THEIR TRANSFER IN COWS AND HEIFFERS

Summary

Investigations on the efficiency of the superovulation and superovulatory response and the number of recovered embryos and also the transfer results of fresh and cryopreserved/thawed bovine embryos were performed on 35 females. Superovulation was induced using PMSG (FolligonR) or FSH (FolltropinR) preparations in 27 females. The results of the superovulation and superovulatory responses on day 7 after induced ovulation and A.I. were followed up by rectal and ultrasonographic examination of the ovaries (ALOHA ECHO CAMERA SSD-210, DX II with 5 MHz transrectal transducer) and 154 ($\bar{x} = 5.70 \pm 0.69$) corpora lutea were established. In 23 females a total of 15 embryos were received and 10 embryos were classified as transferable and then one embryo was instantly transferred into the selected recipient. The other 9 embryos were cryopreserved using freezing machine (LE NICOOBAC MS 21). After some time embryos were thawed and following classification 7 were transferred into 7 synchronized recipients. In 3 recipients estrus reappeared after 25 days, in one after 30 days, and in 3 recipients 35 days after the previous estrus, whereas the pregnancy was ultrasonically established in one recipient on the 34th day.

Primljeno: 15. 11. 1994.