

## AZ EMBRIÓVESZTÉS HATÁSA A TEJELŐ SZARVASMARHÁK FERTILITÁSI EREDMÉNYEIRE

TÓTH FRUZZSINA — SOLYMOSI NORBERT — GÁBOR GYÖRGY

### ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők négy magyarországi tejtermelő holstein-fríz szarvasmarha állományban az embrió- és magzatvesztés mértékének alakulását vizsgálták a termékenyítést követő 25. és 60. nap között. A vizsgálatba 759 vemhes állatot vontak be. A termékenyítést követő 25. és 35. nap közötti embrióvesztést a kérődzők korai vemhességének detektálására (egy vemhességi fehérje kimutatásán alapuló) használt Biopryn® ELISA teszttel vizsgálták. Ennek mértéke 3,29% volt. A vemhesség 35. és 60. napja között bekövetkező veszteségeket (12,67%) a Biopryn teszttel nem lehetett kimutatni, ugyanis a 30–36. nap között elvégzett teszt szerint a vemhességi fehérje mennyisége a szérumban a vemhességnek megfelelő mennyiségű volt. A 25–60. nap közötti embrió- és magzatvesztés mértéke valamint az egyedi tejtermelés mennyisége szerint kialakított csoportok átlaga között szoros, lineáris ( $r=0,93$ ;  $P<0,001$ ) összefüggést találtak.

### SUMMARY

*Tóth, F.Ms. – Solymosi, N. – Gábor, Gy.:* EFFECT OF EMBRYONIC LOSS ON THE FERTILITY OF LACTATING DAIRY COWS

In this recent study, the authors examined the rate of embryonic and foetal loss between 25 and 60 days after AI on four Hungarian dairy farms. 759 pregnant cows were examined in the experiment. The embryonic loss (between 25–35 days after AI) was detected by the Biopryn® ELISA test for PSPB, which was 3.29% of the total number of the pregnant cows. The embryonic loss 35–60 days after the AI, which was 12.67% of the total number of pregnant cows, was impossible to detect by the Biopryn test because the serum PSPB showed the typical level of pregnancy. Interaction was found ( $r=0.93$ ,  $P<0.001$ ) between the individual milk production and the rate of embryonic and foetal losses between 25 and 60 days after AI.

### BEVEZETÉS

A tejelő szarvasmarhák reprodukciós veszteségeinek hátterében *Sreenan és mtsai* (2001) szerint a két ellés között eltelt napok számának növekedése, a nem kielégítő hatékonyságú ivarzás megfigyelés, a nem kellő időben végzett termékenyítés, valamint az embrionális veszteségek állnak. Az embrionális veszteséget kiváltó tényezők *Boyd's* (1965) szerint két csoportba sorolhatók: genetikai (származás, beltenyésztettség, vércsoport) és környezeti faktorok (takarmányozás, életkor, kondíció, tejtermelési színvonal, uterinális környezet). Hazánkban az elmúlt négy évben, 2003 októberéig a tejelő tehén létszám körülbelül 50 ezerrel csökkent (223 ezer tehénre), az összesített tejtermelés, pedig 80 millió literrel nőtt, és elérte a tehenenkénti 7500 kilogrammot. A tejtermelés növekedése a szaporodási potenciál romlásával járt együtt, így a két ellés közötti idő 429 napra, az egy vemhesülésre eső termékenyítések száma, pedig 3,48-ra nőtt (*Mészáros*, 2003). Az embrionális veszteségek döntő hányada (70–80%) a vemhesség első 15. napjáig következik be. A többször ellett tehenek esetében a fertilizáció 70%, a korai (17–19. nap) embrionális veszteség elérheti a 30–35 százalékot is (*Ayalon*, 1978). A későbbi, 16. és 42. nap közötti veszteség 10%, majd az ezt követő időszakban az ellésig a magzati veszteség mintegy 5–8 % (*Sreenan és mtsai*, 2001). A fertilitási eredmények romlását a nagy állomány létszám, a növekvő tejtermelés és az igényeket ki nem elégítő takarmányozási gyakorlat egyaránt okozhatja (*Butler*, 1998; *Darwash és mtsai*, 1999). Az ellést követő első 3–4 hétben a tejtermelés meredek növekedésnek indul, azonban az ehhez szükséges tápanyagokat a lassabb ütemben növekvő szárazanyag-felvétel miatt az állat nem képes felvenni, ami negatív energiaegyensúly (*Negative Energy Balance, NEB*) kialakulásához vezet (*Bauman és Currie*, 1980). Az energiahány ellensúlyozására megindul a szervezetben tárolt zsírok és fehérjék gyors mobilizációja. A testkondíció pontszám egy egységnyi romlása (az 5 pontos skálán) a laktáció elején a vemhesülési eredményeket akár 20 százalékkal is csökkentheti (*Butler*, 2000). A *NEB* hossza, az ellés utáni első ovuláció időpontja és az azt követő vemhesülési ráta között erős pozitív összefüggés áll fenn. A takarmánnyal felvett fehérjék mennyisége és összetétele befolyásolja a sárgatesten progeszteron termelését, valamint az uterinális környezetet, a termékenyülést és az embriófejlődést (*Butler*, 1998).

Ma már rendelkezésünkre állnak olyan korai vemhességvizsgáló módszerek is, amelyek alkalmasnak látszanak a 25. és 60. nap közötti embrió- és magzatvesztések vizsgálatára is. A B módú diagnosztikai ultrahang készülékek már a vemhesség 18. (üzökben) illetve 25. (tehenekben) napján is alkalmasak a vemhesség felismerésére. A szérumban ill. tej progeszteron vagy a különböző vemhességet jelző faktorok (pl. vemhességi fehérjék) kimutatása hasonló eredményességű a termékenyítést követő 28–30. naptól kezdődően. A vemhesség specifikus protein B a vemhes kérődző állatok vérszérumában található fehérje, melyet a trofoblaszt kétmagvú óriás sejtjei termelnek. Tenyészet szinten a vemhesség kimutatására a vemhesülés utáni 28–30. napon használható (*Sasser és mtsai*, 1986). A vemhesség megállapításán kívül a vemhességi fehérjék alkalmasak lehetnek a placenta állapotának vizsgálatára is (*Szenci és mtsai*, 2003). Az elmúlt években fejlesztették ki a vemhesség specifikus protein B kimutatására alkalmas Biopryn® ELISA (BioTracking LLC, Moscow, Idaho, USA) módszert (*Sasser*, 2003).

Vizsgálataink célja az volt, hogy megállapítsuk azt, hogy a termékenyítés utáni 25. és 60. nap között:  
— Alkalmasak-e a Biopryn teszt eredményei az embrió- és magzatvesztés felismerésére?

— A szérumban progeszteron koncentrációk vizsgálatával pontosíthatók-e a Biopryn teszttel detektált embrió- és magzatvesztések?

— A tehenek egyedi tejtermelése hogyan befolyásolja az embrionális, ill. a magzati veszteség mértékét a termékenyítést követő 25. és 60. nap között?

## ANYAG ÉS MÓDSZER

### Vemhességvizsgálat

A kísérleteket négy magyarországi tejelő tehenészetben végeztük (közel kétezer tehenet vizsgáltunk meg), és 759 vemhes tehenet diagnosztizáltunk a termékenyítést követő 30–36. napon végzett Biopryn (BioTracking LLC, Moscow, ID, USA) teszttel. A vemhesség újra-ellenőrzése a termékenyítést követő 60. napon rektális-palpációs vizsgálattal történt.

Az ELISA teszthez a (vér)mintavétel kezeletlen vércsőbe történt. A kísérletben résztvevő tehenek mindegyikénél feltétel volt, hogy az előző elléstől a vérvételig legalább 90 nap teljen el (*Sasser és mtsai*, 1989). Az ELISA lemez fotometrikus vizsgálata ELISA (ELx800 Universal Microplate Reader, BIO-TEK Instruments, INC., USA) reader segítségével történt 450 nm hullámhosszon. A határértéket (cutoff) a gyártó által megadott formula segítségével számoltunk ki a kontroll minták optikai denzitása (OD) alapján, és ebből állapítottuk meg az egyes tehenek vemhes vagy üres státuszát.

A rektális vizsgálatokat a telepek a saját gyakorlatuknak megfelelően végezték és ezek eredménye, valamint a Biopryn teszttel vemhesnek talált állatok számának a különbsége adta meg a termékenyítés utáni 60. napig bekövetkező magzatvesztés mértékét.

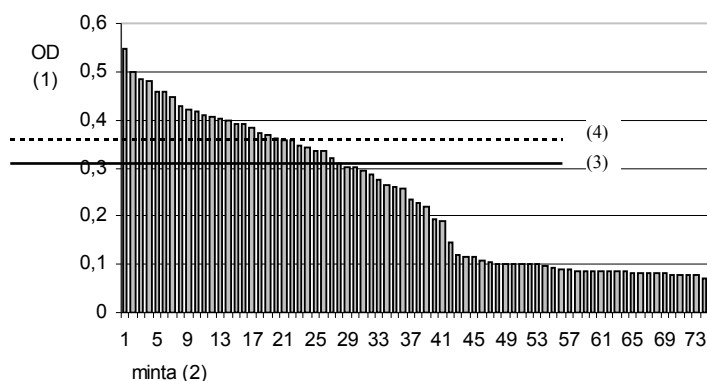
A szérumban progeszteron (P4) koncentráció mérése QuantiCheck (Veterinorg Kft., Budapest) ELISA teszt segítségével történt. A lemezek fotometriás vizsgálatát 450 nm hullámhosszon végeztük ELx800 ELISA leolvasóval.

### A feltételezett embrióvesztés diagnosztizálása

Korábbi, a Biopryn teszttel végzett vizsgálataink során a vemhesség specifikus fehérje kimutatásakor gyakran talákoztunk a vemhességet jelentő határértéket alulról, vagy felülről közelítő optikai denzitású (OD) mintákkal. Ezek egy részét ultrahangos készülékkel rektálisan ellenőrizve azt tapasztaltuk, hogy a határértéknél alacsonyabb optikai denzitású mintákat adó állatok valamennyien üresek voltak, míg a határérték feletti denzitást adó egyedek egy része vemhesnek bizonyult. A termékenyítés utáni 30. és 35. nap között végzett Biopryn teszttel a termékenyítés utáni 25. és 35. nap közötti veszteségek diagnosztizálhatók, mivel a vemhességi fehérje felezési ideje a vérkeringésben 2–3 nap (*Sasser és mtsai*, 1986).

Jelen vizsgálatunkban a határérték optikai denzitása + 10%-os sávba eső minták esetében embrióvesztést feltételeztünk (*1. ábra*). Az adott minták szérumban progeszteron koncentrációját is megvizsgáltuk. A tényleges diagnózist a rektális-palpációs vizsgálat jelentette, illetve ha az állatot időközben újra termékenyítették.

1. ábra: A szérumban vemhességi fehérje optikai denzitás értékek megoszlása az ELISA lemezek fotometriás leolvasása után



határérték(3), határérték + 10% OD érték(4)

Fig. 1.: Distribution of optical densities of pregnancy specific protein b optical density(1), samples(2), cutoff(3), cutoff + 10%(4)

## EREDMÉNYEK

A vemhesség 25–60. napjáig bekövetkező veszteség mértéke (n=118) 15,54% volt (1. táblázat). Az ELISA teszttel diagnosztizált (25–35. napos) veszteség (n=25) 3,29%, a késői (35–60 nap közötti), a Biopryn teszttel nem jelezhető veszteségek mértéke 12,67% (n=93) volt.

1. táblázat

Az embrióvesztés mértéke az egyes csoportokban

A termékenyítés utáni(1)						
25. és 35. nap között Biopryn teszt jelezte(2)			35. és 60. nap között Biopryn teszt nem jelezte(3)			25. és 60. nap között(4)
vemhes(5)	üres(6)	veszteség, %(7)	vemhes(5)	üres(6)	veszteség, %(7)	veszteség, %(7)
759	25	3,29	734	93	12,67	15,54

Table 1.: The actual embryonic losses in the different groups the embryonic loss between(1) 25 and 35 days after AI detected by the Biopryn test(2), 35 and 60 days after AI not detected by the Biopryn test(3), 25 and 60 days after AI(4), pregnant(5), non pregnant(6), embryonic loss, %(7)

A 2. táblázatban a korai vemhességvizsgálattal diagnosztizált feltételezett és tényleges embrióvesztések alakulása látható. A minták szérumszintjén (P4) koncentrációja alapján három kategóriát állítottunk fel: amennyiben a vérérszám P4 koncentrációja alacsonyabb volt, mint 2 ng/ml, akkor embrióvesztést valószínűsítettünk, ha a 2 és 4 ng/ml közötti koncentráció értéket mértünk, akkor embrióvesztést feltételeztünk. A 4 ng/ml feletti szérumszint P4 koncentráció esetén a vemhesség fennmaradását valószínűsítettük. A feltételezett 60 esettel szemben csak 25 esetben történt embrióvesztés. Az alacsony progesteron koncentrációjú minták esetében a feltételezett embrióvesztés 85 százalékban realizálódott. A közepes szérumszint P4 koncentrációjú esetekben (2–4 ng/ml) a veszteség 29,41% volt, míg a vemhességre jellemző szérumszint P4 koncentrációjú csoportban az embrióvesztés mindössze 9,1 százalékot ért el.

2. táblázat

A feltételezett és a tényleges embrióvesztések arányának alakulása a vemhesség 25–35. napja között

Szérumszint progesteron koncentráció(1)	Feltételezett embrióvesztés (2)	Tényleges embrióvesztés (3)	Tényleges veszteség, % (4)
<2 ng/ml	21	18	85,71
2–4 ng/ml	17	5	29,41
>4 ng/ml	22	2	9,1
Összes(5)	60	25	41,4

Table 2.: The expected and the actual rate of embryonic loss between 25 and 35 days of pregnancy serum progesterone concentration(1), presumed embryonic loss(2), actual embryonic loss(3), actual loss, %(4), total(5)

A 2. ábrán az összes embrió- és magzatvesztés tejtermelés szerinti eloszlása látható.

2. ábra: Az embrió- és magzatvesztés alakulása a tejtermelés függvényében a termékenyítés utáni 25. és 60. nap között

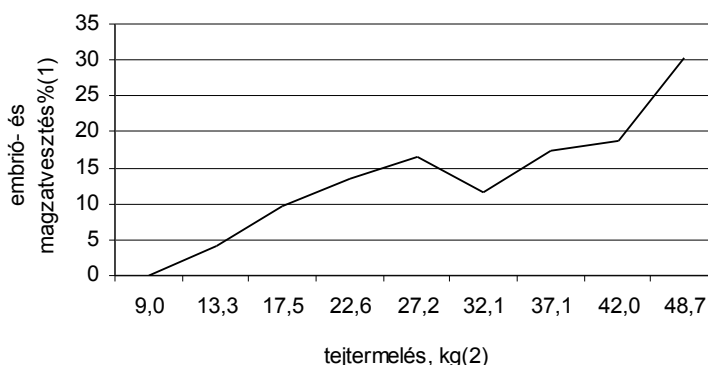


Fig. 2.: The effect of milk production on the embryonic and fetal losses between 25–60 days after AI

embryonic and fetal loss, %(1), milk production, kg(2)

A 25–60. nap közötti embrió- és magzatvesztés mértéke valamint az egyedi tejtermelés mennyisége szerint kialakított csoportok átlaga között szoros ( $r=0,93$ ;  $P\leq 0,001$ ) összefüggést találtunk. A tejtermelés növekedésével a veszteség mértéke is fokozatosan emelkedett. Kisebbségi visszaesés tapasztalható a 32 kg-os átlag tejtermelésű csoportnál az embrió- és magzatvesztés (11,5%) mértékében. A 45 kg-ot meghaladó tejtermelés esetén az embrió- és magzatvesztés mértéke meghaladta a 30 százalékot.

## KÖVETKEZTETÉSEK

Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy a Biopryn teszt alkalmas a korai embrionális veszteségek egy részének felismerésére. Mindenképpen jó kiegészítő módszernek bizonyult a szérum, progeszteron koncentrációjának vizsgálata is, mivel az ezek alapján felállított kategóriákban a tényleges veszteségek alakulása eltérő volt. Az alacsony progeszteron koncentrációjú minták esetében — amikor a veszteséget valószínűsítettük — az embriók több mint 85 százaléka veszett el, míg a vemhességre jellemző szérum progeszteron szint mellett az embrióvesztés alacsony, csupán 9,1 százalékot ért el.

A szakirodalommal megegyezően összefüggést találtunk ( $r=0,93$ ) az egyedi tejtermelés mennyisége szerint kialakított csoportok átlaga között és a termékenyítés utáni 25–60. nap közötti embrió- és magzatvesztés mértéke között. A tejtermelés növekedésével a veszteség mértéke is fokozatosan emelkedett. Számos vizsgálat szerint (*Sartori és mtsai*, 2000; *Vasconcelos és mtsai*, 1997) a késői (a vemhesség 28. napja után) embrionális és magzati veszteségek hátterében a magas tejtermelés áll. Vizsgálatunkban kisebb visszaesés volt tapasztalható az embrió- és magzatvesztés mértékében (11,5%) a 32 kg-os átlag tejtermelésű csoport esetében, amire egyelőre magyarázatot nem tudunk adni, de elképzelhető, hogy a laktációs, szaporasági ill. genetikai információk további elemzésével választ kaphatunk erre a kérdésre is. Vizsgálatunk talán legmeglepőbb eredménye az, hogy a 45 kg feletti tejtermelés esetén az embrió- és magzatvesztés mértéke meghaladta a 30 százalékot, ami felhívja a figyelmet az egyirányú szelekció lehetséges negatív következményére, illetve a magas genetikai értékű állományok tápanyagigény ismeretének fontosságára.

## IRODALOM

- Ayalon, N.*(1978): A review of embryonic mortality in cattle. *J. Reprod. Fertil.*, 54. 483–493.
- Baumann, D.E. – Currie, W.B.*(1980): Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.*, 63. 1514–1529.
- Boyd, H.*(1965): Embryonic death in cattle, sheep and pigs. *Vet. Bull., Weybridge*, 35. 251–266.
- Butler, W.R.*(1998): Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 81. 2533–2539.
- Butler, W.R.*(2000): Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 60–61. 449–457.
- Darwash, A.O. – Lammung, G.E. – Wooliams, J.A.*(1999): The potential for identifying heritable endocrine parameters associated with fertility in postpartum dairy cows. *Anim. Sci.*, 68. 333–347.
- Mészáros, Gy.*(2003): A gazdaságos tejtermelés és a teljesítményvizsgálat összefüggései. Nemzetközi Szarvasmarhatenyésztési Tanácskozás, előadás anyag, Farmer Expo, Debrecen
- Sartori, R. – Sartor-Bergfeldt, R. – Mertens, S.A. – Guenther, J.N. – Parrish, J.J. – Wiltbank, M.C.* (2000): Early embryonic development during summer in lactating dairy cows and nulliparous heifers. *Biol. Reprod.*, 62. 155–155. 125. Suppl. 1.
- Sasser, R.G.*(2003): User's manual of the Biopryn test. BioTracking LLC.
- Sasser, R.G. – Crock, J. – Ruder, C.A.*(1989): Characteristics of pregnancy-specific protein B in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 37. 109–113.
- Sasser, R.G. – Ruder, C.A. – Ivani, K.A. – Butler, J.E. – Hamilton, W.C.*(1986): Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and profile of serum concentrations during gestation. *Biol. Reprod.*, 35. 936–942.
- Sreenan, J.M. – Diskin, M.G. – Morris, D.G.*(2001): Embryo survival rate in cattle: a major limitation to the achievement of high fertility. *Anim. Sci.*, 1. Occas. Pub., 26. 93–104.
- Szenci, O. – Beckers, J.F. – Sulon, J. – Bevers, M.M. – Börzsönyi, L. – Fodor, L. – Kovács, F. – Taverner, M.A.M.*(2003): Effect of induction of late embryonic mortality on plasma profiles of pregnancy-associated glycoprotein 1 in heifers. *Vet. J.*, 3. 307–313.
- Vasconcelos, J.L.M. – Silcox, R.W. – Lacerda, J.A. – Pursley, J.R. – Wiltbank, M.C.* (1997): Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. *Biol. Reprod.*, 56. Suppl. 1. 140.

Érkezett: 2005. január  
 Szerzők címe: Tóth, F. – Gábor, Gy.: Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet  
 Authors' address: Research Institute for Animal Breeding and Nutrition  
 H-2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.  
 Solymosi, N.: Androvet Kft.  
 Androvet Ltd.  
 H-1237 Budapest, Szent László u. 175.