

Wzrost pęcherzyków jajnikowych w cyklu rujowym kóz^{*})

TOMASZ SCHWARZ, EDWARD WIERZCHOŚ

Katedra Hodowli Owiec i Kóz Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Schwarz T., Wierzchoś E.

Growth of the ovary follicles in the oestrus cycle in goats

Summary

Folliculogenesis in three Polish White Goats was studied daily during their breeding season, from September to November. Animals were kept in natural daylight, oestrus behavior was detected twice a day with a vasectomized buck. Daily examinations were performed during four sequential oestrus cycles using transrectal ultrasonic imaging. The wave was defined as a group of follicles which start to grow simultaneously and give origin to one or more follicles > 5 mm in diameter. The mean interovulatory interval was 20.4 days. The mean number of waves was five, but only follicles that grow > 4 mm have a wave pattern of growth. Emergence of smaller follicles was a continuum. The mean rate of growth of the largest follicles was 0.8 mm per day. The maximum diameter of the largest follicles in nonovulatory waves was 6.2, and was bigger in the ovulatory waves: 7 mm ($P < 0.05$). There was a highly significant difference between the two largest follicles in the wave. However, only in 53 % of waves there was a divergence, which is typical for domination phenomenon in cattle. Therefore the mechanism and even occurrence of dominance is still unclear in goats.

Keywords: goats, follicular waves, oestrus cycle.

W 1960 r. Rajakowski (20) zapoczątkował trwającą do dziś dyskusję dotyczącą mechanizmu dojrzewania pęcherzyków jajnikowych bydła. W późniejszym okresie podobnymi obserwacjami objęto też inne gatunki wykorzystując doskonałe niemal z każdym rokiem techniki diagnostyczne. W przypadku bydła i koni stwierdzono i niejednokrotnie potwierdzono falowy charakter dojrzewania pęcherzyków jajnikowych (12, 15-19). Natomiast wiele lat badań prowadzonych na owcach nie zaowocowało tak satysfakcjonującymi wynikami jak w przypadku bydła, bowiem niektóre dane dość jednoznacznie sugerujące, że rozwój pęcherzyków jajnikowych u owiec ma charakter falowy (4, 10, 14, 23-25), były zaprzeczane przez wielu autorów (13, 21, 22, 26). U kóz badania dotyczące dojrzewania pęcherzyków jajnikowych w cyklu rujowym rozpoczęto dopiero w 1994 r. co sprawia, że proces ten nie jest u tego gatunku dostatecznie wyjaśniony.

Celem przeprowadzonych doświadczeń było udzielenie odpowiedzi na pytania czy:

- pęcherzyki w cyklu rujowym kóz pojawiają się i rosną w grupach (falach), czy niezależnie,
- liczba fal w cyklu jest cechą osobniczą, czy też całkowicie niezależną i zmienną oraz czy długość cyklu wpływa na liczbę fal,

– na podstawie różnic w wielkości i charakterze wzrostu największych pęcherzyków z fali można w przypadku kóz mówić o zjawisku dominacji.

Materiał i metody

Obserwacje przeprowadzono na trzech kozach rasy polska biała uszlachetniona, w wieku 2,5 roku, w okresie sezonu aktywności płciowej. Codziennej kontroli wzrostu pęcherzyków jajnikowych dokonywano podczas trwania czterech cykli rujowych między wrześniem i grudniem. Zwierzęta utrzymywano w warunkach naturalnego dnia świetlnego. Wystąpienie rui kontrolowano dwa razy dziennie wazektomizowanym kozłem. Codzienna wizualizacja wzrostu pęcherzyków przeprowadzona była przez jednego operatora przy użyciu ultrasonografu „Aloka SDD 500 Micrus” i liniowej głowicy 7,5 MHz. Kozy unieruchamiano w specjalnie skonstruowanym do tego celu poskromie w pozycji stojącej. Głowicę z obficie nałożonym żelem ultrasonograficznym wprowadzano do prostnicy i odnajdywano jajnik (11). Liczono pęcherzyki oraz mierzono ich średnicę, wykonując dodatkowo szkic, oraz zdjęcie jajnika w kilku pozycjach. Następnie odnajdywano drugi jajnik i kontynuowano wyżej opisane czynności. Podczas badań w kolejnych dniach głowicę i jajniki ustawiano w tej samej pozycji, aby pomiary średnicy pęcherzyków były powtarzalne. W ten sposób uzyskano dane odnośnie indywidualnego wzrostu i atrezji wszystkich pęcherzyków, które osiągnęły co najmniej 4 mm średnicy. Wystąpienie owulacji stwierdzano jako nagły zanik dużego pęcherzyka w czasie

^{*}) Badania wykonane w ramach grantu KBN 5PO6D 03117.

gdy samica wykazywała objawy rui wykryte przez kozła. W celu potwierdzenia poziomu owulacji po pięciu dniach wykonywano zabieg laparoskopii kontrolując liczbę ciątek żółtych.

Podczas interpretacji danych uzyskanych z obserwacji, obydwie jajniki każdego zwierzęcia traktowano jako jeden narząd. Dlatego też wykresy wzrostu i atrezji pęcherzyków zostały wykonane dla zwierzęcia, a nie dla poszczególnych jajników. Ponieważ często pęcherzyki osiągające swój maksymalny wzrost w jednym cyklu rozpoczynały wzrost jeszcze w cyklu poprzednim, interpretację danych zaczynało w dniu -2, czyli dwa dni przed końcem poprzedniego cyklu (dzień 0 = dzień owulacji). Cały cykl rujowy podzielono na pięć okresów, w których mogły pojawiać się fale: -2:1; 2:5; 6:10; 11:13; 14:17. Mianem fali określano grupę pęcherzyków, które rozpoczynały wzrost w zbliżonym czasie (mieszczącym się w wyznaczonych okresach), rosły powyżej 4 mm średnicy i z których wyodrębniał się co najmniej jeden pęcherzyk o średnicy powyżej 5 mm. Pęcherzyki z jednej fali mogły pojawiać się dłużej niż w ciągu jednego dnia (11). Za najistotniejszy wyznacznik terminu pojawienia się fali uznano moment uwidocznienia się pęcherzyka, który później osiągnął największą średnicę.

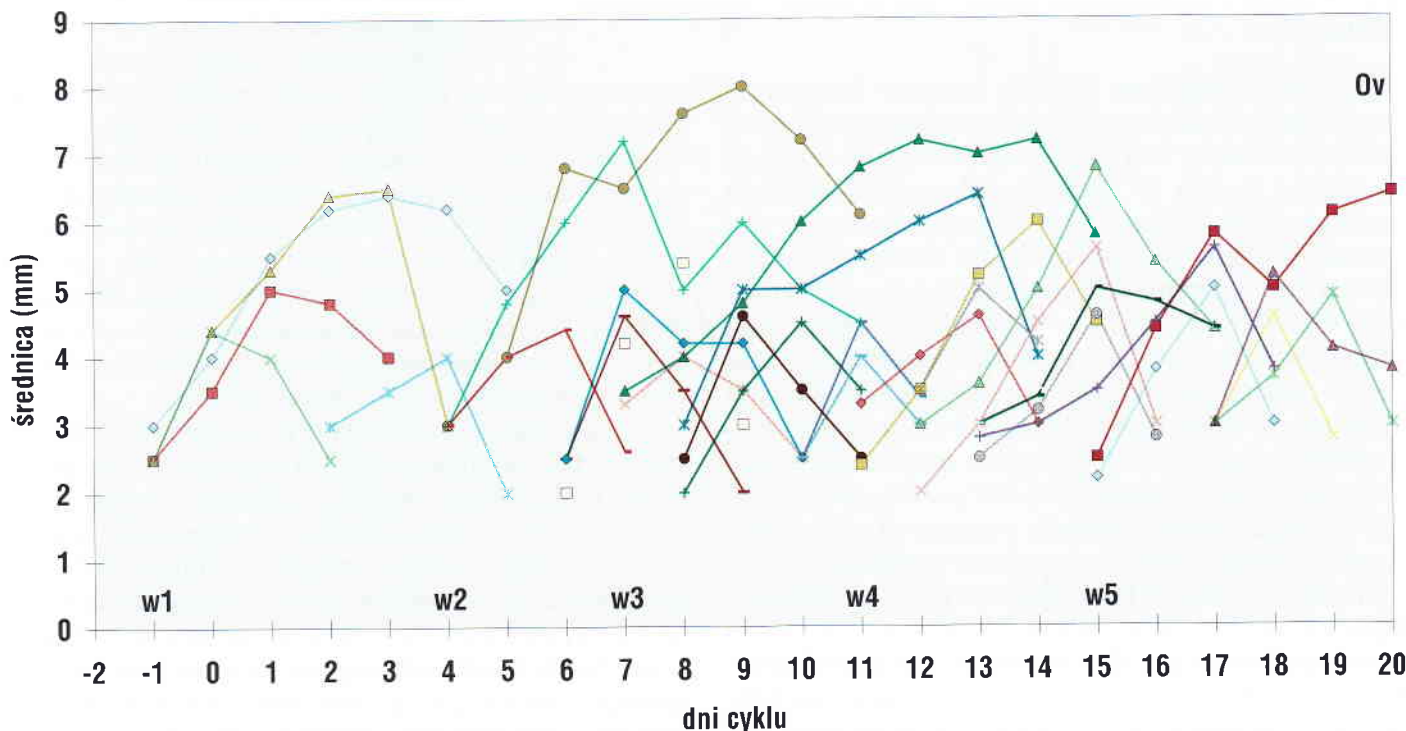
Podczas analizy uzyskanych w czasie obserwacji danych obliczono następujące wartości: 1) średnią liczbę pęcherzyków rosnących powyżej 4 mm w fali i w cyklu; 2) średnią liczbę pęcherzyków rosnących powyżej 5 mm; 3) średni przyrost dobowy największego pęcherzyka w fali; 4) maksymalną średnicę dwóch największych pęcherzyków z poszczególnych fal; 5) średni czas potrzebny na osiągnięcie maksymalnego wzrostu przez największy pęcherzyk z fali. Analizując pojawianie się pęcherzyków rosnących > 5 mm średnicy po scentralizowaniu danych na dzień pojawienia się fali, wyznaczono punkty maksymalne i mini-

malne. Istotność różnic między tymi punktami oceniano testem t-Studenta dla par skorelowanych. Istotność różnic między dniami w pojawianiu się pęcherzyków określano analizą wariancji i testem Duncana, podobnie jak istotność różnic między maksymalnymi średnicami osiąganymi przez największe pęcherzyki w falach. Istotność różnic między maksymalnymi średnicami największych i drugich co do wielkości pęcherzyków z fali oceniano testem t-Studenta. Wyliczono też współczynniki korelacji między długością cyklu a liczbą fal, oraz czasem wzrostu a maksymalną średnicą osiąganą przez największy pęcherzyk.

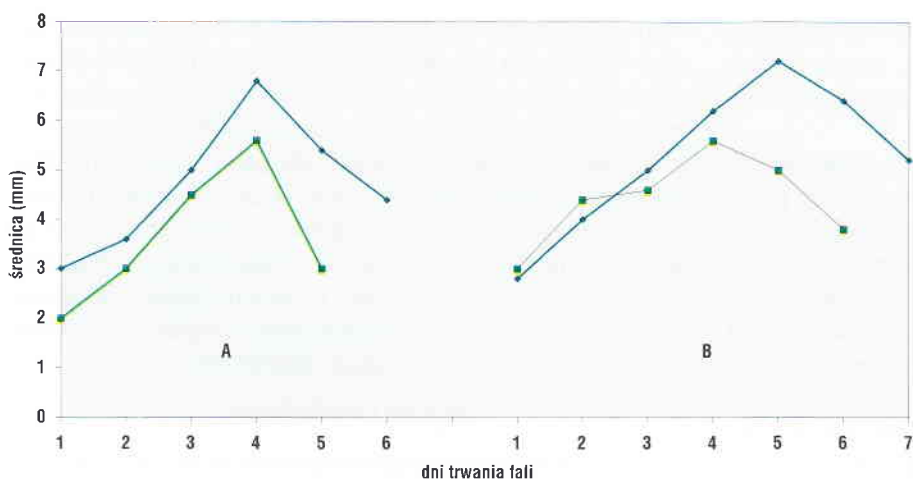
Wyniki i omówienie

Doświadczenie przeprowadzono w sezonie aktywności płciowej kóz, w warunkach naturalnego dnia świetlnego. Zwierzęta nie były też poddawane żadnym dodatkowym zabiegom i miały kontakt z kozłem, którego zadaniem było wykrywanie rui. Wykonane obserwacje dotyczą zatem cyklu rujowego przebiegającego w całkowicie naturalnych warunkach i mogą stanowić podstawę do porównań podczas wykonywania dalszych doświadczeń. U każdej z trzech uczestniczących w doświadczeniu kóz przebadano cztery cykle rujowe. Średnia długość cyklu wyniosła $20,4 (\pm 1,1)$ dnia, co jest wartością zgodną ze standardem określanym jako 19-23 dni. Jednakże jeden z cykli trwał 28 dni. Poza nadmierną długością cykl ten charakteryzował się też ponad przeciętnie dużą ilością fal – 7. Jednak pozostałe cykle tej kozy były już typowe.

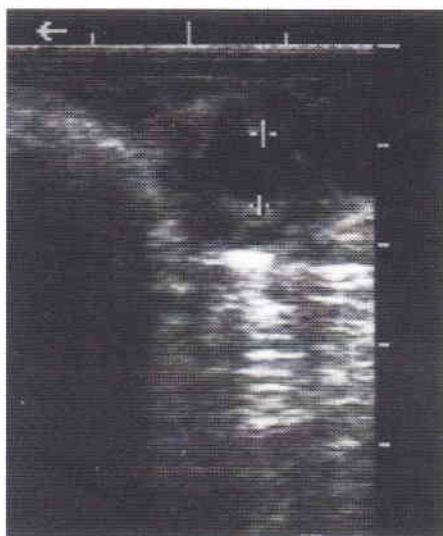
Pierwszym postawionym we wstępie problemem był charakter wzrostu pęcherzyków. Pęcherzyki z dwóch pierwszych klas wielkości, a zatem osiągające maksymalną średnicę 4 mm pojawiały się w cyklu rujowym codziennie, nie wykazując żadnego rytmu. Dopiero



Ryc. 1. Indywidualny wzrost 31 pęcherzyków w naturalnym pięciofalowym cyklu rujowym kozy nr 3



Ryc. 2. Porównanie wzrostu dwóch największych pęcherzyków z fali; A – bez dywergencji, B – z dywergencją



Ryc. 3. Jajnik z pęcherzykiem przedowulacyjnym



Ryc. 4. Jajnik z ciałkiem żółtym

pęcherzyki osiągające większe średnice formowały grupy i jeśli z takiej grupy wyodrębnił się co najmniej jeden pęcherzyk, który osiągnął średnicę > 5 mm to nazywano ją falą. W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano najwięcej cykli pięciofalowych – 5 i czterofalowych – 4. Indywidualny wzrost pęcherzyków w cyklu pięciofalowym obrazuje ryc. 1. Oprócz tego wystąpiły dwa cykle sześćofalowe i jeden siedmiofalowy. Średnia zatem liczba fal wyniosła 4,8. Inne miary centralnego skupienia (mediana i dominanta) wyniosły 5. Powyższe obliczenia potwierdzają średnie ilości pojawiających się pęcherzyków osiągających > 5 mm średnicy. Uzyskane wyniki potwierdzają wnioski wyciągnięte przez innych autorów (5, 11) dowodzące falowego charakteru wzrostu pęcherzyków. Jedynie średnia liczba fal w cyklu w owych badaniach była niższa (5, 11). W dniach: -1, 4, 7, 11 i 15 cyklu rujowego kóz pojawiało się istotnie więcej pęcherzyków ($p < 0,05$) co jest najlepszym dowodem na falowy charakter pojawiania się pęcherzyków osiągających większe średnice. Podobnie jak w poprzednich bada-

niach nie udało się stwierdzić falowego wzorca wzrostu pęcherzyków osiągających maksymalną średnicę 4 mm (11). Słuszną zatem wydaje się być podana przez Ginthera i Kota (11) interpretacja tego zjawiska zakładająca, iż mniejsze pęcherzyki tworzą pulę charakteryzującą się ciągłym wzrostem, a z tej puli w odpowiednich warunkach wyodrębnia się fala, w skład której wchodzi pęcherzyki charakteryzujące się większą średnicą. Średnia liczba pęcherzyków osiągających > 4 mm średnicy wyniosła $5,8 (\pm 1)$ w fali i $29,8 (\pm 4,9)$ w cyklu. Średni czas pomiędzy początkiem fali a dniem osiągnięcia maksymalnej średnicy przez największy pęcherzyk wyniósł 4,1 dnia ($\pm 0,7$), a średni odstęp między falami był bardzo podobny i wyniósł 4,04 dnia ($\pm 1,4$). Średnie tempo wzrostu największego pęcherzyka z fali wyniosło 0,8 mm dziennie. Maksymalna średnica osiągnięta przez największe pęcherzyki fal nieowulacyjnych wyniosła średnio $6,2 (\pm 0,2)$ mm i nie różniła się istotnie pomiędzy tymi falami. Jedynie średni pęcherzyk owulacyjny był istotnie większy ($7 (\pm 1)$ mm; $p < 0,05$). Współczynnik korelacji pomiędzy czasem wzrostu a maksymalną osiągniętą średnicą wyniósł 0,85 i był istotny ze statystycznego punktu widzenia.

Drugie zagadnienie jakie postanowiono opracować dotyczyło zmienności liczby fal w cyklu rujowym kóz. Współczynnik korelacji między długością cyklu a liczbą fal wyniósł 0,52 i był statystycznie nieistotny, zatem liczb fal nie zależała od długości cyklu. Liczba fal wahała się od 4 do 6, a ponieważ u jednej kozy mogły wystąpić po sobie cykle z różną ilością fal, nie jest to cecha osobnicza. W opisywanym doświadczeniu nie udało się zatem odnaleźć czynnika wpływającego na liczbę fal w cyklu, stwierdzono natomiast iż jest to cecha zmienna.

Trzecie podjęte zagadnienie dotyczyło występowania zjawiska dominacji w cyklu rujowym kóz. W przypadku bydła jest to zjawisko bardzo dobrze poznane i opisane (3, 8, 9), jednakże jego występowanie u owiec i kóz pozostaje kwestią sporną. Szczególnie duża liczba publikacji dotyczących owiec powoduje istnienie wielu teorii, często całkowicie ze sobą sprzecznych. Większość tychże teorii wskazuje na istnienie zjawiska dominacji u owiec tyle, że charakter tego zjawiska wydaje się nieco inny niż u bydła (7, 10, 14, 24, 27). Są jednak i takie, które temu przeczą (6, 21, 22).

Mała liczba badań wykonanych na kozach powoduje co prawda, iż nie ma sprzecznych teorii dotyczących dominacji, ale zjawisko to pozostaje niewyjaśnione. Badania Ginther i Kot (11) wskazują na istnienie zjawiska dominacji, tyle że mniej wyraźnie zaznaczonego niż u bydła. Potwierdzają to późniejsze badania de Castro i wsp. (5). W opisywanym doświadczeniu za parametry wskazujące na istnienie dominacji uznano: a) istotność różnic w wielkości osiaganej przez największy i drugi co do wielkości pęcherzyk z fali; b) wystąpienie pomiędzy dwoma największymi pęcherzykami z fali dywergencji, która powoduje, iż mniejszy pęcherzyk przestaje rosnać wcześniej. Różnice między średnicami osiaganymi przez dwa największe pęcherzyki z fali były wysoce istotne, zatem pierwszy warunek został spełniony. Ogółem w dwunastu cyklach wystąpiło 60 fal. W obrębie tych fal wyróżniono dwa wzorce przebiegu wzrostu dwóch największych pęcherzyków, które przedstawiono na wykresie (ryc. 2). Wykres A. obrazuje przebieg wzrostu pęcherzyków bez dywergencji, zaś wykres B. z dywergencją typową dla zjawiska dominacji u bydła. Drugi wzorzec wystąpił w 32 falach, co stanowi 53%. Jednakże często zdarzało się, iż różnica średnicy między dwoma największymi pęcherzykami była niewielka, co mogło oznaczać dominację dwóch pęcherzyków. Wówczas skontrolowano też przebieg wzrostu trzeciego co do wielkości pęcherzyka i okazało się, że dywergencja wystąpiła w kolejnych 10 falach, co razem oznacza 70% fal, w których wystąpiło to zjawisko. Przeprowadzone badania nie dają jednak definitywnej odpowiedzi na pytanie czy u kóz występuje zjawisko dominacji. Po pierwsze pozostaje 30% fal, w których nie dopatrzono się dywergencji, a po drugie istnieją jeszcze inne bardzo ważne wyznaczniki dominacji, które w tak prowadzonych badaniach są niemożliwe do ustalenia np. obecność receptorów LH w osłonce i warstwie ziarnistej pęcherzyka dominującego (2, 6, 28), czy charakterystyczne zachowanie się pęcherzyków pod wpływem zmian poziomów hormonów gonadotropowych (1, 3, 8, 9).

Podsumowując należy stwierdzić, iż wzrost pęcherzyków w naturalnym cyklu rujowym kóz ma niewątpliwie charakter falowy, choć liczba fal jest niestabilizowana i nie udało się stwierdzić od czego może ona zależeć. Kwestia występowania zjawiska dominacji pomiędzy pęcherzykami z fali pozostaje niejasna, choć wydaje się prawdopodobne, iż kozy pod tym względem bardziej przypominają bydło niż owce.

Piśmiennictwo

1. Adams G. P., Kot K., Smith C. A., Ginther O. J.: Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 1993, 30, 259.
2. Bodensteiner K. J., Wiltbank M. C., Bergfelt D. R., Ginther O. J.: Alterations in follicular estradiol and gonadotropin receptors during development of bovine antral follicles. *Theriogenology* 1996, 45, 499.
3. Bodensteiner K. J., Kot K., Wiltbank M. C., Ginther O. J.: Synchronization of emergence of follicular waves in cattle. *Theriogenology* 1996, 45, 1115.
4. Brand A., DeJong W. H. R.: Qualitative and quantitative micromorphological investigations of the tertiary follicle population during the oestrous cycle in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 1973, 33, 431.
5. De Castro T., Rubianes E., Menchaca A., Rivero A.: Ultrasonic study of follicular dynamics during the estrous cycle in goats. *Theriogenology* 1998, 49, 399 abstr.
6. Driancourt M. A., Webb R., Fry R. C.: Does follicular dominance occur in ewes? *J. Reprod. Fertil.* 1991, 93, 63.
7. Fortune J. E., Sirois J., Turzillo A. M., Lavoie M.: Follicle selection in domestic species. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1991, 43, 187.
8. Ginther O. J., Kastelic J. P., Knopf L.: Composition and characteristic of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 1989, 20, 187.
9. Ginther O. J., Knopf L., Kastelic J. P.: Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycle with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.* 1989, 87, 223.
10. Ginther O. J., Kot K., Wiltbank M. C.: Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 1995, 43, 689.
11. Ginther O. J., Kot K.: Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology* 1994, 42, 987.
12. Ireland J. J., Roche J. F.: Development of nonovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. *Endocrinology* 1983, 112, 150.
13. Lahlou-Kassi A., Mariana J. C.: Ovarian follicular growth during the oestrous cycle in two breeds of ewes of different ovulation rate, the D Man and the Timahdite. *J. Reprod. Fertil.* 1984, 72, 301.
14. Noel B., Bister J. L., Paquay R.: Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *J. Reprod. Fertil.* 1993, 99, 695.
15. Pierson R. A., Ginther O. J.: Follicular population dynamics during the estrous cycle of the mare. *Anim. Reprod. Sci.* 1984, 14, 219.
16. Pierson R. A., Ginther O. J.: Follicular populations during the estrous cycle in heifers: 1. Influence of day. *Anim. Reprod. Sci.* 1987, 124, 165.
17. Pierson R. A., Ginther O. J.: Ultrasonography of bovine ovary. *Theriogenology* 1984, 21, 495.
18. Pierson R. A., Ginther O. J.: Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers. *Theriogenology* 1986, 26, 649.
19. Pierson R. A., Ginther O. J.: Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology* 1988, 29, 21.
20. Rajakoski E.: The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical, and left-right variations. *Acta. Endocrinol.* 1960, 34 (supl 52), 7.
21. Ravindra J. P., Rawlings N. C., Evans A. C. O., Adams G. P.: Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 1994, 101, 501.
22. Schrick N. F., Surface R. A., Pritchard J. Y., Dailey R. A., Townsend E. C., Inskoop E. K.: Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biol. Reprod.* 1993, 49, 1133.
23. Smeaton T. C., Robertson H. A.: Studies on the growth and atresia of graafian follicles in the ovary of the sheep. *J. Reprod. Fertil.* 1971, 25, 243.
24. Souza C. J. H., Campbell B. K., Baird D. T.: Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. *Biol. Reprod.* 1997, 56, 483.
25. Souza C. J. H., Campbell B. K., Baird D. T.: Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus. *J. Reprod. Fertil.* 1996, 108, 101.
26. Turnbull K. E., Braden A. W. H., Mattner P. E.: The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Aust. J. Biol. Sci.* 1977, 30, 229.
27. Webb R., England B. G.: Relationship between LH receptor concentrations in thecal and granulosa cells in vivo and in vitro steroid secretion by ovine follicles during the preovulatory period. *J. Reprod. Fertil.* 1982, 66, 169.
28. Xu Z., Garverick H. A., Smith G. W., Smith M. F., Hamilton S. A., Youngquist R. S.: Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. *Biol. Reprod.* 1995, 53, 951.