

Wpływ stosowania gonadotropiny kosmówkowej na przyspieszanie dojrzałości płciowej ogierów^{*})

MARCIN PAWLAK, MARIAN TISCHNER

Katedra Rozrodu i Anatomii Zwierząt Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt AR, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Pawlak M., Tischner M.

Effect of chorionic gonadotropin on sexual maturity in stallions

Summary

The purpose of the present study was to examine the mechanisms which control the process of sexual maturation and to demonstrate whether long-term administration of hCG may accelerate sexual maturity in stallions.

Investigations were carried out on 16 Polish Pony colts aged 7-8 months. The experimental group (9 colts) were given 2000 i.v. hCG three times a week for 16 weeks. Sexual behavior, testosterone concentration in blood serum and the rate of testes development were examined during this period. Semen was collected from day one of the experiment attempts from 5 experimental and 4 control animals by means of A.V.G. The collected ejaculates were macro- and micro-evaluated and spermatozoa concentration and morphology estimated.

The experimental colts showed earlier and more frequent sexual reactions, higher testosterone levels from the beginning of treatment as well as increased ejaculate volumes. The negative effect of hCG on spermatogenesis remains obscure. The first ejaculates collected after attaining sexual maturity contained fewer motile spermatozoa and more normal ones.

Keywords: stallion, sexual maturity, hCG

Procesy zachodzące w organizmie samca w okresie dojrzewania mają kluczowe znaczenie dla kształtowania się płodności i wydolności rozrodczej w wieku dojrzałym. W tym czasie mogą występować również zaburzenia tego procesu, które mają ujemny wpływ na dalszą karierę rozplodową samca. Niezależnie od potrzeby lepszego poznania mechanizmów regulujących proces dojrzewania płciowego ogierów, dąży się obecnie coraz częściej do skracania okresu międzypokoleniowego, aby tym samym przyspieszyć postęp genetyczny. Współczesna praktyka hodowlana wymaga rozpoczynania wczesnej eksploatacji rozplodowej i kontynuowania jej w uzasadnionych przypadkach do końca naturalnej wydolności (24). W hodowli zwierząt istnieje już szereg metod pozwalających na przyspieszanie dojrzałości płciowej u samic (3, 13, 18).

Badania nad przyspieszeniem dojrzałości płciowej poprzez podawanie LH i FSH przeprowadzono również u 4-8-tygodniowych buhajków (4). Innym hormonem, który może być stosowany do przyspieszania dojrzałości płciowej samców jest gonadotropina kosmówkowa (hCG). Ma ona działanie analogiczne do działania hormonu luteinizującego LH. Wiąże receptory LH w komórkach Leydiga oraz pobudza syntezę i wydzielanie hormonów gonadowych u samca (10). Hormon ten znajduje szerokie zastosowanie w andrologii, zastępując trudne do uzyskania w większej ilości

ci gonadotropiny przysadkowe. W leczeniu chorób związanych z niedoborem hormonów płciowych częstokroć zwraca się uwagę na pozytywny wpływ stosowania hCG na rozwój jąder i proces spermatogenezy oraz prawidłowe kształtowanie się zachowania płciowego (8).

Celem badań było bliższe poznanie mechanizmów regulujących proces dojrzewania płciowego oraz sprawdzenie, czy poprzez długotrwałe podawanie hCG można spowodować przyspieszenie dojrzałości płciowej ogierów.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 16 ogierkach rasy konik polski. Piętnaście ogierków urodzonych w miesiącach marzec-sierpień pochodziło z jednego stada. Sześć z nich było pełnymi braćmi, a dziewięć półbraćmi. Jeden ogierek został zakupiony ze stada zachowawczego koników polskich w Popielnie. Przez cały okres doświadczenia ogierki przebywały w jednakowych warunkach utrzymania, były jednakowo żywione i miały zapewniony ruch. Zwierzęta podzielono na dwie grupy: doświadczalną (9 szt.) i kontrolną (7 szt.). Ogierkom z grupy doświadczalnej, które osiągnęły wiek 7-8 miesięcy, podawano trzy razy w tygodniu przez 16 tygodni (poniedziałek, środa, piątek), hCG (Biogonadyl, Biomed Lublin) i.m. w ilości 2000 i.u.

Badania nad kształtowaniem się zachowania płciowego przeprowadzono na 9 ogierkach, jeden tydzień przed pierwszym podaniem hCG i kontynuowano przez cały okres jego

^{*}) Praca realizowana w ramach grantu KBN nr 6 PO6D 009 20.

Tab. 1. Wyniki oceny zachowania płciowego ogierków wobec klaczy w rui ($\bar{x} \pm SD$)

Częstotliwość reakcji płciowych	Grupa doświadczalna (n=5)	Grupa kontrolna (n=4)
Przedkopulacyjne:		
- dotykanie	9,79* \pm 4,49	6,82 \pm 3,62
- szczypanie	3,79 \pm 3,22	2,24 \pm 2,26
- lizanie	1,94 \pm 1,78	0,66 \pm 1,08
- obwąchiwanie słabizny	1,12* \pm 1,14	0,49 \pm 0,99
- obwąchiwanie zewn. narządów płciowych	4,23* \pm 2,38	2,01 \pm 1,62
- flehmen	1,57* \pm 1,54	0,64 \pm 0,95
- wokalizacja	1,31 \pm 1,95	brak
- wypuszczanie prącia	1,92* \pm 2,04	0,32 \pm 0,60
- erekcja	0,74* \pm 1,30	0,19 \pm 0,62
Kopulacyjne:		
- wspięcie bez erekcji	0,39 \pm 0,92	brak
- wspięcie z erekcją	0,51 \pm 1,01	brak
- wprowadzanie prącia	0,03 \pm 0,18	brak
- kopulacja	0,02 \pm 0,15	brak

Objaśnienia: * $p \leq 0,05$

podawania. Przeprowadzono je raz w tygodniu, a każda próba składała się z osobnych 10-minutowych testów dla poszczególnych osobników. Zachowanie ogierków wobec klaczy w rui rejestrowano przy użyciu wideokamery z generatorem napisów umożliwiającym wczytanie zegara pracującego z dokładnością do 1 sek. Wideokasety odtwarzano i analizowano w laboratorium. Typ oraz częstotliwość poszczególnych zachowań płciowych notowano bezpośrednio podczas prób. Reakcje podzielono na reakcje przedkopulacyjne i kopulacyjne (tab. 1).

Przed pierwszym podaniem hCG od wszystkich ogierków trzykrotnie pobrano krew celem określenia stężenia testosteronu. Pobieranie krwi kontynuowano jeden raz w tygodniu, zawsze o stałej porze, w godz. 14.00-15.00 przez cały okres podawania preparatu Biogonadyl i 2 tygodnie po zakończeniu podawania. Surowicę krwi przechowywano w temperaturze -18°C aż do czasu wykonania właściwych oznaczeń. Stężenie testosteronu oznaczano metodą immunoenzymatyczną (Biodata Diagnostics, Włochy) i radioimmunologiczną (Orion Diagnostica, Finlandia). Różnice w średnich stężeniach testosteronu, wynikające z zastosowania metody immunoenzymatycznej i radioimmunologicznej nie przekraczały 10%, co pozwoliło na połączenie wyników oznaczeń.

Pomiary jąder za pomocą testimetru i ultrasonografu z głowicą liniową przeprowadzano raz w miesiącu na 16 ogierkach. W wieku 12 miesięcy 7 z nich wykastrowano i pomiary kontynuowano na pozostałych 9 ogierkach, aż do osiągnięcia przez nie wieku 30 miesięcy. W celu zobrazowania rozwoju jąder posłużono się parametrem objętości (cm^3) jąder wyliczonym ze wzoru na objętość elipsoidu: $V = 4/3 \pi (w/2) (h/2) (l/2)$ gdzie litery w, h, l oznaczają kolejno: szerokość, wysokość i długość jądra.

Od początku trwania eksperymentu od 9 ogierków dokonywano prób pobierania nasienia do sztucznej pochwy. Po uzyskaniu pierwszych ejakulatów nasienie pobierano jeden raz w tygodniu przez pierwsze 3 miesiące, a następnie co 4 tygodnie. Każdy ejakulat poddawano ocenie makro- i mikroskopowej oraz określano koncentrację i budowę morfologiczną plemników. W wieku ok. 2 lat przeprowadzono przez 10 kolejnych dni tzw. próbę opróżnienia (PO) (1,6). Średnia liczba plemników uzyskana od 4-10 dnia próby określona została jako ich efektywna dobową produkcją (5, 6).

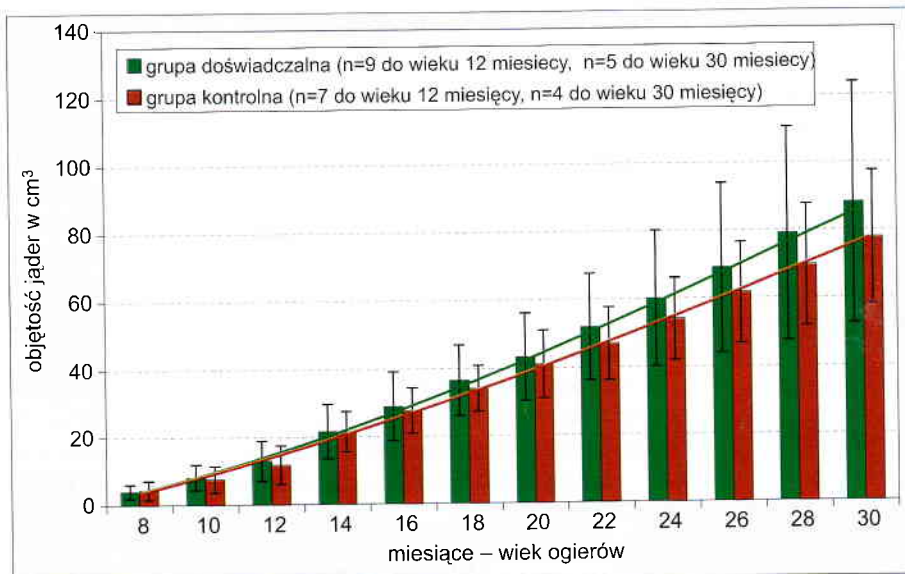
Uzyskane dane poddano analizie statystycznej z uwzględnieniem średnich z odchyleniem standardowym. Do weryfikacji istotności różnic pomiędzy badanymi grupami wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji, test t-Studenta i test LSD.

Wyniki i omówienie

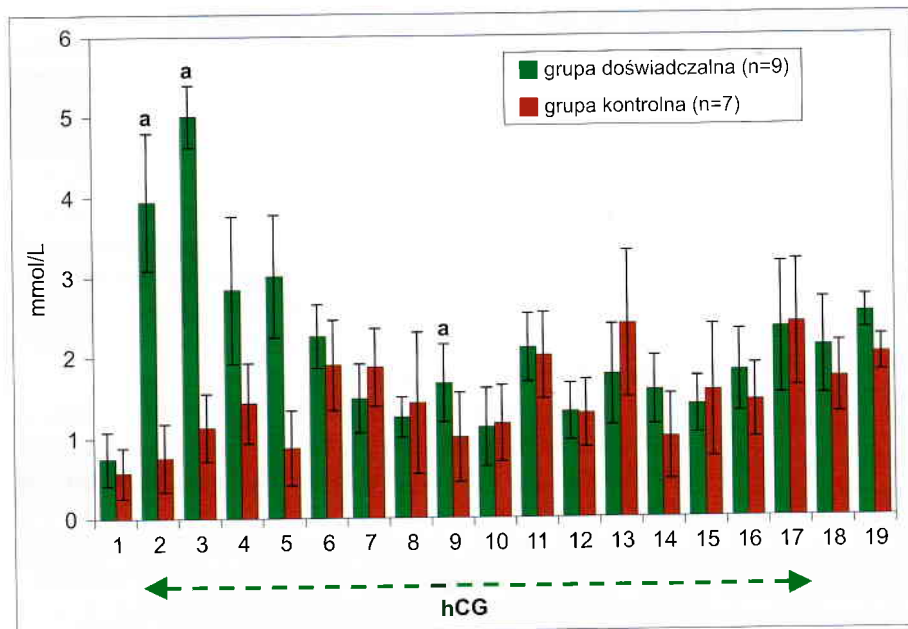
W dotychczasowych pracach obejmujących problematykę dojrzewania płciowego ogierów zwracano głównie uwagę na zmiany wielkości jąder, zachowanie płciowe, zmiany stężenia hormonów gonadotropowych i testosteronu, wiek uzyskania pierwszych ejakulatów, wiek wystąpienia pierwszych plemników w ejakulatach i dobową produkcję plemników (14, 15). Badano również wpływ pory roku na dojrzewanie płciowe (20) oraz określano zawartość podstawowych składników osocza nasienia i przydatność nasienia do głębokiego zamrażania (12). W dostępnym piśmiennictwie brak jest natomiast informacji dotyczących prób przyspieszenia dojrzewania płciowego oraz danych nt. wpływu hormonów egzogennych na proces dojrzewania płciowego ogierów. Większość badań z tego zakresu dotyczy ludzi, buhajów, tryków i zwierząt laboratoryjnych.

Rozwój jąder. U ogierków w wieku 7-8 miesięcy jądra były słabo wyczuwalne, konsystencji wiotkiej. Objętość jąder w tym czasie wynosiła $4,0 \pm 2,13 \text{ cm}^3$ u ogierków grupy doświadczalnej i $4,4 \pm 2,73 \text{ cm}^3$ w grupie kontrolnej. Intensywny rozwój jąder rozpoczął się w wieku 1 roku. Wzrost jąder postępował u wszystkich ogierków w sposób liniowy co potwierdzają badania Nadena i wsp. (15). Objętość jąder w wieku jednego roku ogierków grupy doświadczalnej wynosiła $13,0 \pm 6,0 \text{ cm}^3$ i w grupie kontrolnej $11,9 \pm 5,7 \text{ cm}^3$. Ogierki, które otrzywały hCG wykazywały tendencje szybszego przyrostu masy jąder, jednak w żadnym okresie nie wystąpiły istotne różnice pomiędzy grupą doświadczalną i kontrolną, co sugeruje, że hCG nie wpływa na szybkość rozwoju jąder. W chwili zakończenia eksperymentu, tj. w wieku 30 miesięcy średnia objętość jąder u ogierków grupy doświadczalnej wynosiła $88,2 \pm 35,74 \text{ cm}^3$, a kontrolnej $77,8 \pm 19,78 \text{ cm}^3$ (ryc. 1).

Poziom testosteronu. U wszystkich ogierków stężenie testosteronu przed rozpoczęciem podawania hCG było podobne i wynosiło ok. $0,7 \text{ nmol/L}$, z wahaniami od 0 do $1,39 \text{ nmol/L}$. Stosowanie hCG spowodowało



Ryc. 1. Rozwój jąder ogierów rasy konik polski ($\bar{x} \pm SD$)



Ryc. 2. Stężenie testosteronu ($\bar{x} \pm SD$) w surowicy krwi ogierków w kolejnych tygodniach doświadczenia. Wiek ogierków w chwili rozpoczęcia eksperymentu: 7-8 miesięcy

Objaśnienia: a – $p \leq 0,05$

istotny wzrost poziomu testosteronu w pierwszych 2-3 tygodniach podawania tego hormonu ($p \leq 0,05$). W 4.-5. tygodniu stosowania hCG podwyższony poziom testosteronu utrzymywał się pomiędzy grupami na granicy istotności różnic. W 9. tygodniu w grupie doświadczalnej poziom testosteronu wynosił średnio $1,66 \pm 1,1$ nmol/L, a w kontrolnej $1,00 \pm 0,88$ nmol/L ($p \leq 0,05$). Od 10. tygodnia aż do zakończenia podawania hCG średnie wartości stężeń testosteronu były zbliżone u ogierków doświadczalnych i kontrolnych (ryc. 2).

Wzrost poziomu testosteronu w czasie dojrzewania nie następuje jednak wraz ze szczytem inicjującym LH, co oznacza, że komórki śródmiąższowe początkowo nie są wrażliwe na stymulację hormonalną (15). Po

jednorazowym podaniu hCG podwyższony poziom testosteronu utrzymuje się u zwierząt przez ok. 5-13 dni (9). Stosowanie hCG u buhajów w wieku 3-11 miesięcy nie dało efektu w postaci znaczącego wzrostu stężenia testosteronu w porównaniu z jego najwyższym fizjologicznym stężeniem (22). Navratil i wsp. (16) udowodnili istnienie pewnej rezerwy hormonalnej i możliwości jej uwolnienia poprzez stosowanie hCG u niedojrzałych płciowo knurków oraz możliwość wykorzystania tego zjawiska do diagnostyki zaburzeń funkcji jąder w wieku przedpokwitaniowym.

W przeprowadzonych badaniach poziom testosteronu u ogierków znacznie wzrósł po podaniu hCG. Może to oznaczać istnienie pewnej rezerwy endokrynnej w jądrach młodych ogierków oraz zdolność komórek śródmiąższowych do produkcji i wydzielania testosteronu, jeszcze przed osiągnięciem pełnej dojrzałości płciowej. Potwierdzeniem tych przypuszczeń było obniżenie stężenia testosteronu w następnych tygodniach stosowania hCG, co może również sugerować, że komórki śródmiąższowe pomimo ciągłej stymulacji, mają ograniczoną zdolność do stałego utrzymywania wysokiego stężenia testosteronu w surowicy krwi.

W niniejszych badaniach, podczas ustalania wielkości dawki i częstotliwości podawania hCG przyjęto rutynowe postępowanie stosowane w leczeniu opóźnionego dojrzewania u ludzi (*puberta tarda*). Jednak wielokrotne podawanie hCG w krótkich odstępach czasu może przyczynić się do powstawania u zwierząt przeci-

ciał przeciwko hCG, które powodują zmniejszanie i skrócenie odpowiedzi humoralnej na stymulację gonadotropiną kosmówkową (21). Na temat roli przeciwciał przeciwko hCG istnieją jednak zróżnicowane opinie. Wykazano (17, 25), że powstawanie przeciwciał powoduje tylko zmniejszenie wrażliwości organizmu na stymulację gonadotropiną kosmówkową, nie wpływając jednocześnie na endogenne mechanizmy regulacyjne. Ze względu na brak komercyjnych zestawów diagnostycznych oraz trudną i kosztowną procedurę nie przeprowadzono oznaczeń przeciwciał przeciwko hCG.

We wcześniejszych badaniach własnych (7) wykazano, że reakcja immunohistochemiczna jest szczególnie nasiloną w komórkach Leydiga 12- i 30-miesięcz-

nych ogierów otrzymujących hCG, co świadczy o dużej liczbie receptorów androgenowych w badanych komórkach. W jądrach 12- i 30-miesięcznych ogierów grupy kontrolnej nie notowano tak silnej ekspresji badanego białka receptorowego. Zwiększenie intensywności reakcji immunohistochemicznej na receptory androgenowe w tkankach jądra mogło być spowodowane stymulacją hCG, co może wskazywać, że u ogierków otrzymujących hCG nie nastąpiło wytworzenie przeciwciał przeciw gonadotropinie kosmówkowej.

Zachowanie płciowe. Podawanie hCG 7-8-miesięcznym ogierkom spowodowało zwiększenie częstotliwości reakcji przedkopulacyjnych i przyspieszenie wystąpienia niektórych reakcji płciowych (tab. 1). W pierwszych kontaktach z kłaczą w rui ogierki zarówno z grupy doświadczalnej, jak i kontrolnej nie wykazywały żadnych reakcji płciowych. W czasie trzeciej próby można już było zaobserwować wszystkie reakcje przedkopulacyjne i niektóre reakcje kopulacyjne. Zdecydowaną większość reakcji przedkopulacyjnych obserwowano u ogierków grupy doświadczalnej. Podczas kolejnych prób u wszystkich ogierków nastąpiło stopniowe nasilenie reakcji płciowych, które objawiały się zwiększaniem częstotliwości występowania badanych reakcji, jednak reakcje kopulacyjne wystąpiły tylko u ogierków otrzymujących hCG.

Dojrzałość płciowa. Pierwsze ejakulatory u ogierków grupy doświadczalnej uzyskano średnio w wieku 18,6 miesięcy, a pierwsze plemniki pojawiły się w ejakulatach w wieku 20,7 miesięcy. U ogierków grupy kontrolnej pierwsze ejakulatory uzyskano około dwa miesiące później, a pierwsze plemniki 1,2 miesiąca później. Liczba plemników i ich ruchliwość wzrastały w kolejnych ejakulatach.

Średni czas uzyskania dojrzałości płciowej zdefiniowanej przez Nadena i wsp. (15) jako obecność w ejakulacie co najmniej 50 milionów plemników, z których 10% wykazuje ruch postępowy, ogierki z grupy doświadczalnej osiągnęły w wieku 21,8 miesiąca (z wahaniami 18-25 miesięcy), a ogierki z grupy kontrolnej w wieku 24,4 miesięcy (z wahaniami od 20 do 30 miesięcy).

Nasienie. Porównanie wybranych cech nasienia przedstawiono w tab. 2. W wieku 24-28 miesięcy średnia objętość ejakulatów ogierków grupy doświadczalnej była wyższa niż w grupie kontrolnej. Zwiększenie objętości nasienia w następstwie podawania hCG obserwowano również u psów (26). Natomiast średnia ruchliwość masy plemników u ogierków otrzymujących hCG w wieku 24-25 miesięcy była niższa o ok. 12% w porównaniu ze średnią ruchliwością plemni-

Tab. 2. Wybrane cechy nasienia ogierów w zależności od wieku ogierów ($\bar{x} \pm SD$)

Cechy nasienia	Wiek – miesiące					
	I. l.	24-25	I. l.	26-28	I. l.	29-30
Objętość (ml)						
Grupa: doświadczalna	21	16,9* \pm 7,0	14	16,6* \pm 7,7	10	12,6 \pm 7,0
kontrolna	18	10,1 \pm 4,7	11	11,0 \pm 4,8	7	10,9 \pm 7,1
Ogólna liczba plemników $\times 10^9$						
Grupa: doświadczalna	21	1,90 \pm 1,5	14	1,90 \pm 1,2	10	2,41 \pm 1,8
kontrolna	12	1,64 \pm 1,2	8	2,21 \pm 1,3	6	2,31 \pm 2,0
Ruchliwość (%)						
Grupa: doświadczalna	19	40,5* \pm 11,6	11	40,0 \pm 11,8	8	48,1 \pm 13,6
kontrolna	13	52,7 \pm 12,0	8	41,9 \pm 23,3	5	54,0 \pm 20,7
Plemniki prawidłowe (%)						
Grupa: doświadczalna	14	38,7* \pm 9,9	12	44,3 \pm 13,3	10	46,8 \pm 16,2
kontrolna	9	56,9 \pm 13,9	8	54,4 \pm 13,1	6	48,3 \pm 13,5

Objaśnienia: * $p \leq 0,05$; I. l. – liczba ejakulatów

ków w grupie kontrolnej. Prawdopodobnie ubocznym skutkiem podawania hCG było przejściowe obniżenie w wieku 24-25 miesięcy procentu plemników ruchliwych u ogierków doświadczalnych. W kolejnych miesiącach procent plemników ruchliwych ustabilizował się zarówno w nasieniu ogierków grupy doświadczalnej, jak i kontrolnej.

Średnia liczba plemników morfologicznie normalnych ogierów w wieku 24-25 miesięcy była znacząco niższa u ogierów z grupy doświadczalnej ($p \leq 0,05$). Najczęściej stwierdzanymi wadami plemników w nasieniu ogierów grupy doświadczalnej były: pojedyncze pętle witki (10-43%), złamania witki (4-17%), luźne główki (5-22%), krople protoplazmatyczne dalsze (3-11%) oraz krople protoplazmatyczne bliższe (5-7%). W grupie kontrolnej były to: pojedyncze pętle witki (19-25%), złamania witki (4%), luźne główki (6-18%) oraz krople protoplazmatyczne w położeniu bliższym (4%) i dalszym (3-5%). Liczba plemników z luźnymi główkami była znacznie większa w nasieniu obu grup ogierów w porównaniu z wynikami podanymi przez Rasińskiego i Kosiniaka (19). W kolejnych miesiącach procent plemników prawidłowych utrzymywał się już na podobnym poziomie zarówno w nasieniu ogierków otrzymującymi hCG, jak i kontrolnych. Obserwacje te wskazują, że długotrwałe stosowanie gonadotropiny kosmówkowej w okresie dojrzewania płciowego może powodować odwracalne zaburzenia w procesie dojrzewania plemników. Zmniejszenie się liczby plemników morfologicznie niezmiennych przy jednoczesnym wzroście objętości obserwowano podczas stosowania analogów GnRH u psów z oligospermią (11).

Całkowita liczba plemników w ejakulatach ogierów doświadczalnych i kontrolnych w chwili osiągnięcia dojrzałości była podobna i nie różniła się od wyników uzyskanych przez Nadena i wsp. (15). W kolejnych

miesiącach liczba plemników w nasieniu w obu grupach stopniowo wzrastała.

Efektywna dobową produkcją plemników (EDPP). Podczas próby opróżnienia (PO) średnia dzienna liczba uzyskanych ejakulatów wynosiła $1,98 \pm 0,38$ dla ogierów doświadczalnych i $1,75 \pm 0,26$ dla kontrolnych. Efektywna dobową produkcją plemników wyniosła $1,39 \pm 1,19 \times 10^9$ dla ogierów z grupy doświadczalnej i $0,77 \pm 0,57 \times 10^9$ dla grupy kontrolnej. W obu grupach wystąpiły znaczne różnice indywidualne pomiędzy ogierami. Średnia liczba plemników wyprodukowanych w ciągu doby przez ogiery grupy otrzymującej hCG wieku 24 miesięcy była większa w porównaniu z EDPP ogierów 26-28-miesięcznych rasy pantaneiro (14) i zbliżona do produkcji 24-miesięcznych ogierów półkrwi (15). Amann (2) podaje, że EDPP dorosłych ogierów waha się zależnie od sezonu od $3,19$ do $6,4 \times 10^9$. Potwierdza to wcześniejsze obserwacje, że w wieku 24 miesięcy wielkość produkcji plemników jest niewielka, a gonadotropina kosmówkowa podawana w okresie dojrzewania nie ma wpływu na zwiększenie dobowej produkcji plemników w wieku 2 lat.

Podsumowanie

Długotrwałe podawanie gonadotropiny kosmówkowej ogierom w okresie dojrzewania płciowego, w dawce 2000 j.m. przyspiesza wystąpienie niektórych oznak dojrzałości. Powoduje szybsze wystąpienie i zwiększenie częstotliwości reakcji płciowych, podwyższa stężenie testosteronu w początkowym okresie stosowania hCG i zwiększa objętość ejakulatów. Niejasny jest natomiast negatywny wpływ hCG na proces spermatogenezy. W pierwszych ejakulatach po uzyskaniu dojrzałości płciowej stwierdzano mniejszą liczbę plemników ruchliwych i jednocześnie większą liczbę plemników z wadami morfologicznymi.

Piśmiennictwo

1. Amann R. P.: A review of anatomy and physiology of stallion. *J. Equine Vet. Sci.* 1981, 1, 83-105.
2. Amann R. P.: Physiology and endocrinology, [w:] McKinnon A. O. & Voss L. J.: Equine Reproduction. Lea & Febiger. Philadelphia, London 1993, chapter 77, 658-685.
3. Armstrong D. T., Holm, P., Irvine B., Petersen B. A., Stubbings R. B., McLean D., Stevens G. F., Seamark R. F.: Pregnancies and live birth from in vitro fertilization of calf oocytes collected by laparoscopic follicular aspiration. *Theriogenology* 1992, 38, 667-678.
4. Bagu E. T., Madgwick S., Duggavathi R., Bartlewski P. M., Barrett D. M., Huchkowsky S., Cook S. J., Rawlings N. C.: Effects of treatment with LH or FSH from 4 to 8 weeks of age on the attainment of puberty in bull calves. *Theriogenology* 2004, 62, 861-873.
5. Bielański W.: Rozród zwierząt. PWRiL, Warszawa 1979.
6. Bielański W., Wierzbowski S.: Próby określenia dziennej produkcji plemników u tryka i u ogiera na podstawie tzw. prób opróżnienia dokonanych w różnych odstępach czasu. *Mat. Konf. PAN Kraków* 1963, s. 180-181.
7. Bilińska B., Hejmej A., Pawlak M., Sadowska J., Tischner M.: Immun-expression of androgen receptors in testes of immature and mature stallions. *Equine Vet. J.* 2004 36, 539-543.
8. Bouvattier C., Tauber M., Jouret B., Chaussain J. L., Rochiccioli P.: Gonadotropin treatment of hypogonadotropic hypogonadal adolescents. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 1999, 1, 339-344.
9. Garnier F., Saez J. M.: Response of plasma testosterone to human chorionic gonadotropin stimulation in the ram. *Biol. Reprod.* 1980, 22, 832-836.

10. Hartwig W.: Endokrynologia kliniczna, PZWL, Warszawa 1984.
11. Kawakami E., Hori T., Tsutsui T.: Changes in plasma luteinizing hormone, testosterone and estradiol-17 β levels and semen quality after injections of gonadotropin releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin in tree dogs with oligozoospermia and two dogs with azoospermia. *Anim. Reprod. Sci.* 1997, 47, 157-160.
12. Kosiniak K.: Andrologia okresu dojrzewania i starzenia płciowego ogierów. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 1987, 340, 147-189.
13. Marchal R., Feugang J. M., Perreau C., Venturi E., Terqui M., Merimllo P.: Meiotic and developmental competence of prepubertal and adult swine oocytes. *Theriogenology* 2001, 56, 17-29.
14. Melo M. I. V., Sereno J. R. B., Henry M., Cassali G. D.: Peripuberal sexual development of Pantaneiro stallions. *Theriogenology* 1998, 50, 727-737.
15. Naden J., Amann P., Squires E. L.: Testicular growth, hormone concentrations, seminal characteristics and sexual behaviour in stallions. *J. Reprod. Fert.* 1990, 88, 167-176.
16. Navratil S., Mladek F., Hruska K.: Concentration of testosterone in the blood of sexually immature boars after stimulation with chorionic gonadotropin. *Vet. Med. (Praha)* 1976, 1, 617-622.
17. Ottobre J. S., Stouffer R. L.: Antibody production in rhesus monkeys following prolonged administration of human chorionic gonadotropin. *Fert. Steril.* 1985, 43, 122-128.
18. Ptak G., Loi P., Dattena M., Tischner M., Cappai P.: Offspring from one-month-old lambs: studies on the developmental capability of prepubertal oocytes. *Biol. Reprod.* 1999, 61, 1568-1574.
19. Rasiński W., Kosiniak K.: Interpretacja zmian morfologicznych plemników buhaja i ogiera w świetle nowych badań. *Acta Agr. et Silvestr. Ser. Zootech.* 1989, 28, 179-184.
20. Skinner J. D., Bowen J.: Puberty in the Welsh stallion. *J. Reprod. Fert.* 1968, 16, 133-135.
21. Sundby A., Torjesen P. A.: Plasma levels of testosterone on bulls: response to repeated hCG injections. *Acta Endocrinol. (Copenhagen)* 1978, 88, 787-792.
22. Sundby A., Velle W.: Relationship between growth rate in bulls and human chorionic gonadotropin-induced plasma testosterone concentrations. *J. Anim. Sci.* 1983, 56, 52-57.
23. Taha M. B., Noakes D. E., Allen W. E.: The effect of some exogenous hormones on seminal characteristics, libido and peripheral plasma testosterone concentrations in the male beagle. *J. Small Anim. Pract.* 1981, 22, 587-590.
24. Wierzbowski S.: Andrologia. Wyd. Platan – Kryspinów 1999.
25. Wilson C. G., Craig R. D., Hughes J. P., Roser J. F.: Effects of repeated hCG injections on reproductive efficiency in mares. *J. Equine Vet. Sci.* 1990, 10, 301-308.

Adres autora: dr n. wet. M. Pawlak, ul. Jodłowa 12/1, 30-251 Kraków

EL HOUADFI M., KICHOU F., TAZI R.M., MOUAHID M., KISSI B.: Pierwsze doniesienie o występowaniu zakaźnego zapalenia krtani i tchawicy ptaków w Maroku. (First report of avian infectious laryngotracheitis in Morocco). *Vet. Rec.* 156, 520-521, 2005 (16)

W kwietniu 2003 r. do Instytutu Rolniczo-Weterynaryjnego w Rabacie dostarczono 12 niosek w wieku 46 tyg. pochodzących ze stada liczącego 9000 kur rasy warren. Ptaki padały w ciągu tygodnia, a w ostatnich 2 dniach przed przystąpieniem kur do badania padło 300 niosek. Wśród objawów klinicznych dominowała duszność, wyciek z oczu, spadek nieśności o 30%. Nie uzyskano efektów stosując przez 5 kolejnych dni kolistynę z enrofloksacyną. Drugie ognisko choroby wystąpiło w stadzie 4000 niosek rasy tetra w wieku 28 tyg., w którym upadki nie przekraczały 10 sztuk ptaków/dzień. Jedyną zmianą pośmiertną była obecność skrzepów krwi i serowatych błon pokrywających nabłonek tchawicy. Badaniem histologicznym stwierdzono ostre zapalenie oskrzeli, obrzęk śluzówki i naciek zapalny w tchawicy głównie heterofilów, zwyrodnienie komórek nabłonka, obecność włókniaka i erytrocytów. Wysięk zawierał syncycja z ciałkami wtretowymi typu A Cowdry. Śródjądrowe ciała wtretowe były obecne w komórkach błony kosmówkowo-omocznikowej zarodków kurzych po 11 dniach po zakażeniu patologicznym materiałem.