

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

ANDRZEJ DUBIEL

Obserwacje nad unasienianiem suk

Z Kliniki Położniczej Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynarii AR we Wrocławiu

Mimo, że pierwsze zabiegi inseminacyjne przeprowadzono na psach, sztuczne unasienianie suk nie znalazło tak szerokiego zastosowania jak u innych gatunków zwierząt. Metoda ta jest stosowana wtedy, gdy suka mimo cieczki „odgryza się” (nie dopuszcza samca), lub przy znacznej różnicy w wielkości partnerów, oraz w wypadku dużej odległości między miejscami pobytu dobranych zwierząt. W sporadycznych wypadkach wykorzystano sztuczne unasienianie w przypadku osłabienia lub braku popędu płciowego u reproduktora.

Umożliwia także szersze i skuteczniejsze wykorzystanie wartościowych, sprawdzonych reproduktorów, oraz pomaga w zwalczaniu szeregu schorzeń, przenoszących się drogą aktu krycia.

Obecnie sztuczne unasienianie przeprowadza się z ekonomicznego punktu widzenia, gdyż koszt wysyłki nasienia jest o wiele mniejszy w porównaniu z transportem suk do pokrycia.

Nasienie od psów pobiera się do sztucznej pochwy lub przez masaż żołądki prącia (2, 4, 6, 7, 8). U psów ostrych, nerwowych służy temu celowi elektro ejakulacja na spętanym zwierzęciu albo w oszołomieniu (1).

Nasienie przeznaczone do celów sztucznego unasieniania powinno odpowiadać normom przewidzianym dla ejakulatów psów płodnych przydatnych do rozrodu (3, 7).

Wielu lekarzy (cyt. za 4, 7, 8) używa do celów sztucznego unasieniania 5 ml szklanej strzykawki, połączonej z 1 ml szklaną pipetą przy pomocy kawałka gumowej rurki. Niektórzy z nich wolą używać wziernika pochwowego, skonstruowanego ze szklanej próbówki z otworem w jej dnie, do przeprowadzenia pipety.

Można także posługiwać się innymi typami wzierników na podobnych zasadach, jak u większości zwierząt domowych. Nasienie może być także wprowadzane do macicy przy pomocy kateteru z tamponatorem, który pozostaje w pochwie przez okres 30 minut. W tym wypadku, podobnie jak w czasie krycia, nasienie dostaje się do dróg rodnych na zasadzie ciśnienia (cyt. za 4).

Wraz z rozwojem hodowli psów rasowych rośnie zainteresowanie sztucznym unasienianiem.

Biorąc pod uwagę ważność wymienionego zagadnienia przeprowadzono własne obserwacje nad sztucznym unasienianiem suk.

Materiał i metody

Obserwacje przeprowadzono na 20 sukach różnych ras, w wieku 1,5 do 5 lat. W przeważającej liczbie były to psy rasowe, posiadające właścicieli i będące pod ścisłą kontrolą (4 owczarki szkockie, 2 owczarki alzackie, 3 pudle, 3 pekińczyki, 2 doberman, 1 wyżeł, 1 maltańczyk, 1 cocker spaniel, 1 jamnik, 1 skye terrier i 1 mieszaniec).

Najczęstszym powodem sztucznego unasieniania suk było: „odgryzanie się” (11 sztuk), brak doświadczenia u partnera (3 sztuki), duża różnica w wielkości zaplanowanych partnerów (2 sztuki), wąskość sromu suk (2 sztuki), zrosty prącia z napletkiem u partnera (1 sztuka) i rany tylnych kończyn u partnerki (1 sztuka). Zwierzęta unasieniano sztucznie od 9 do 16 dnia cieczki. Nasienie od psów do celów sztucznego unasieniania pobierano metodą masturbacji. Przestrzegano zasady, aby przy pobieraniu nasienia była osoba, którą pies dobrze zna, lub ciekająca się suka.

Od psów nerwowych uzyskiwano nasienie przy pomocy odpowiednio adaptowanej sztucznej pochwy dla bydła o długości 20 cm, podgrzanej do temp. 40°C. Od psów małych ras pobierano nasienie przy użyciu sztucznej pochwy dla królików. Ciśnienie wewnątrz pochwy zmieniano w zależności od wielkości dawcy nasienia.

Najpierw przeprowadzano masaż żołądki prącia, którą w czasie erekcji wprowadzono do światła sztucznej pochwy. W niektórych przypadkach, aby wywołać odruch ejakulacji przeprowadzono dodatkowo masaż *bulbus glandis penis* lub wykonywano pochwą delikatne ruchy. Do odruchu ejakulacji dochodziło najczęściej zaraz po wprowadzeniu prącia w stadium wzwodu do wnętrza pochwy. Nasienie pobierano do kalibrowanych próbek z płaszczem wodnym o temp. 35 do 37°C. Tuż po pobraniu ejakulatu przeprowadzono ocenę wstępną nasienia, polegającą na określeniu jego objętości, barwy, woni, konsystencji, ziarnistości, gęstości i odsetka plemników o ruchu prawidłowym. Po ocenie wstępnej określano koncentrację plemników w 1 mm³ nasienia i odsetek plemników anormalnych. Nie przeprowadzono unasieniania suk w wypadku uzyskania nasienia nie nadającego się do celów rozrodu (azoospermia, oligospermia, nekrospermia, duży odsetek plemników zmienionych itd.). Zabieg unasieniania przeprowadzano nasieniem nie rozrzedzonym, bezpośrednio po jego pobraniu i ocenie. Objętość dawki nasienia wahała się od 0,5 do 10 ml, a koncentracja plemników o ruchu prawidłowym w wymienionej objętości wynosiła od 10 do 408 milionów.

Po dokładnym specjalistycznym badaniu klinicznym partnerów, sukę umieszczano na stole w pozycji stojącej lub leżącej na prawym boku. Zwierzę przytrzymywano odpowiednio, a po dokładnym umyciu sromu i wysuszeniu ligniną wprowadzano nasienie do szyjki

macy przy pomocy pipety inseminacyjnej używanej przy unasienianiu bydła. Po wprowadzeniu nasienia do dróg rodnych sukki tył zwierzęcia podnoszone do góry i w tej pozycji pozostawiano je przez okres około 10 minut w celu uniemożliwienia wyciekania nasienia na zewnątrz. W tym czasie wprowadzano do pochwy sukki jeden lub dwa palce w rękawicze gumowej czując, że pochwa w okresie estrus wykazuje charakterystyczne pulsujące skurcze. Zabieg ten miał przyspieszyć reakcję macicy, a tym samym przyspieszyć wędrówkę plemników w kierunku jajowodów.

Omówienie wyników

Obserwacje własne wykazały, że na 17 unasienianych suk (3 sukki nie oceniono ze względu na brak wiadomości o wynikach sztucznego unasieniania) doszło do porodu u 9 sztuk, czyli 52,9% unasienianych zwierząt. Otrzymano w miocie 1—7 szczeniąt, średnio 4. Śledząc wyniki unasieniania zwrócono uwagę na fakt, że na 11 nieprzyjmujących psa suk tylko 3 zaszły w ciążę. Wyniki te przemawiają za ścisłym powiązaniem zjawiska „odgryzania się” suk z zaburzeniami neurohormonalnymi. Pozytywny efekt sztucznego unasieniania w postaci ciąży obserwowano w tych przypadkach, gdy unasieniano sukki z wąskością sromu, przy dużej różnicy w wielkości partnerów oraz przy braku doświadczenia ze strony wybranego partnera. Dochodziło do zapłodnienia wtedy, gdy zwierzęta unasieniano od 9—13 dnia cieczki, licząc od początku rui. W jednym tylko przypadku suka zaszła w ciążę w 14 dniu cieczki. Objętość dawki nasienia niezbędna do zapłodnienia wynosiła od 1,5—10 ml a ilość plemników o ruchu prawidłowym w wymienionej dawce wahała się od 60—408 milionów. Obserwacje własne wykazały, że zwężenie sromu sukki może być przyczyną komplikacji przy porodzie i wada ta musi być brana pod uwagę, jeżeli suka przeznaczona jest do rozrodu. Nie należy mylić wyżej wymienionych anomalii z przedwczesnym wzwozem prącia u psa, uniemożliwiającym kopulację przy prawidłowo zbudowanym układzie płciowym sukki.

Obserwacje własne i wielu autorów wykazały, że negatywny wynik unasieniania suk (brak ciąży) ma ścisły związek z owulacją, która u wymienionych zwierząt może występować w różnym okresie cieczki. Zdaniem Studiencowa (9) czas trwania rui u suk waha się w granicach od 8—14 dni, ale u zwierząt dobrze odżywionych okres ten może się przedłużyć. Popęd płciowy u sukki (suka przyjmuje psa) występuje już od 4—5 dnia cieczki, częściej zaś 9—13 dnia i trwa 1—3 dni. Jajeczkowanie następuje zwykle w końcu cieczki i zgadza się ono w czasie z fazą popędu płciowego. Wobec dojrzewania wielu pęcherzyków Graafa proces jajeczkowania może trwać kilka dni, co umożliwia często spotykane zjawisko zapłodnienia nasieniem, pochodzącym od różnych samców (*superfoecundatio*).

Podobnie Götze (4) podaje, że owulacja przypada zwykle na 10—13 dnia cieczki i wyraża się wyszukiwaniem psa i zdolnością sukki do *coitus*. W tym czasie obserwuje się zanikający obrzęk sromu, a z pochwy wydziela się mierny wypływ. Przekrwienie dróg rodnych ustępuje i leukocytny obraz wymazu z pochwy zanika, a na jego miejscu pokazują się bezjądrzaste, zrogowaciałe komórki. Owulacja przebiega w ciągu kilku godzin.

Natomiast Turner (10) uważa, że ruja u suk trwa około 16—20 dni. Jajeczkowanie następuje około 10 dnia cieczki, przy czym suka może wykazywać chęć do kopulacji przez następne 6—8 dni.

Według Maule (8) najbardziej odpowiednim czasem do inseminacji suk to 24—48 godzin licząc od chwili, gdy suka przyjmuje psa pozwalając na kopulację.

W tym okresie krwawy wyciek z dróg rodnych ustaje i jest zastąpiony jasnym, w słomkowym kolorze wypływem. Srom, który jest w dalszym ciągu obrzmiały, staje się miękki, pozwalając na łatwe wprowadzenie prącia. Opisana faza trwa średnio 6 dni, chociaż można obserwować znaczne różnice indywidualne i rasowe. Notowane są przypadki, kiedy suka pozwalała na kopulację najkrócej 3 dni i najdłużej nawet 21 dni (cyt. za 8).

Śledząc wyniki obserwacji własnej i innych autorów należy przyjąć, że w celu skorygowania czasu unasieniania sukki z owulacją powinien być dokładnie określony termin wystąpienia popędu płciowego u danego zwierzęcia. Zabieg sztucznego unasieniania powinien być przeprowadzony w dniu wystąpienia *libido sexualis* u sukki i powtórzony po 24 lub 48 godzinach. W przypadku kiedy suka jest nerwowa, odgryza się różnym psom, lub czuje awersję do zaplanowanego samca, pobiera się wymaz z pochwy samicy, który po odpowiednim zabarwieniu jest wskaźnikiem danego stadium rui (obecność złuszczonej komórki nabłonka). Wykonanie rozmazu z pochwy sukki do celów diagnostycznych nie jest rzeczą trudną. Wargi sromowe należy przetrzeć zwitkiem ligniny, a następnie wprowadzić wacik do pochwy i wykonywać nim półobroty w celu pobrania materiału. Po wyjęciu wacika wykonuje się rozmaz na szkiełku podstawowym, a po jego wyschnięciu barwi się jedną z wielu metod (Shorr, Wright, Giemza itd.).

Sukki u których nie stwierdzono ciąży po unasienianiu nasieniem od płodnych samców powinny być dokładnie przebadane i poddane specjalistycznemu leczeniu. Nie rzadko spotyka się sukki, u których można obserwować fazę czynnego przekrwienia układu płciowego, ale prawidłowa cieczka nie występuje, gdyż nie dochodzi do pęknięcia pęcherzyków Graafa, które ulegają atrezji (3). Przy wymienionych zaburzeniach neurohormonalnych poleca się podawanie w odpowiednim czasie rui prolanu A, serogonadotropiny lub surowicę ciężarnej klaczy.

Przy przestrzeganiu pewnych zasad obowiązujących przy sztucznym unasienianiu dochodzi zwykle do zapłodnienia i ciąży, jeżeli pies i suka są zwierzętami płodnymi. Faktem jest, że aby doszło do zapłodnienia sukki nasienie psa musi być wprowadzone domacicznie. Obserwacje Götzego (4) wykazały, że optymalna objętość dawki nasienia nierozrzedzonego zależy od wielkości sukki i wynosi od 2—5 ml. U suk nerwowych można stosować przed zabiegiem unasieniania premedykację. Procent zapłodnienia suk i liczba szczeniąt w miocie są zależne przede wszystkim od czasu, w którym zabieg ten jest przeprowadzany. Trudno zwykle określić

optymalny moment do unasienniania, czy krycia, kiedy nie znamy początku ciecarki. Z drugiej strony naleŹy wziąć pod uwagę fakt Źe owulacja u suk moŹe wystąpić w róŹnym okresie czasu, licząc od początku rui. Cennym diagnostycznie uzupełnieniem wywiadu i badania klinicznego jest cytologiczny obraz błony słuŹowej pochwy. MoŹna jednak stwierdzić, Źe najlepsze wyniki otrzymano unasienniając suki międy 9 a 13 dniem licząc od początku ciecarki. Nie sã jednak wyjątkiem przypadki, kiedy suka zaszła w ciążę wcześniejsz niŹ 9 dnia lub póŹniej niŹ 13 dnia ciecarki, np. z drugim psem.

Wnioski

1. Najlepsze wyniki sztucznego unasienniania uzyskano, unasienniając suki międy 9 a 13 dniem ciecarki.
2. Optymalna objętość dawki nasienia nie-

zbędna do zapłodnienia suki zależna jest od wielkości zwierzęcia i waha się w granicach od 1,5—10 ml.

3. Najmniejsza dawka plemników o ruchu postępowym, jaką uzyskano zapłodnienie wyniosła 60 milionów.

Piśmiennictwo

1. Christensen G. C., Dougherty R. W.: J. Am. Med. Vet. Ass. 127, 50, 1955.
2. Dubiel A.: Weterynaria Wrocław 29, 225, 1972.
3. Dubiel A.: Weterynaria Wrocław (w druku).
4. Götze R.: Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussägetiere, Verlag Schaper, Hannover, 1949.
5. Griffiths W. F., Amoroso E. C.: Vet. Rec. 51, 1279, 1939.
6. Harrop A. E.: Br. vet. J. 110, 194, 1954.
7. Kozumplik J.: Ročenka CMS-Klubu Chovatelu lovečkých spanelů, 4, 4, 1970.
8. Maule J. P.: The semen of animals and artificial insemination, CAB, 1962.
9. Studiencow A.: Położnictwo i ginekologia weterynaryjna, PWRiL, 1956.
10. Turner C. D.: Endokrynologia ogólna, PWRiL, 1964.

Adres autora: dr Andrzej Dubiel, 50-147 Wrocław, ul. NoŹownicza 30 m. 5.

JERZY STRZEŹEK, JÓZEF LIMINOWICZ, TADEUSZ ROTKIEWICZ

Wskaźniki biochemiczne w zastosowaniu do oceny jakości nasienia zwierząt gospodarskich. VII. Charakterystyka immunologiczna białek plazmy nasienia buhajów ze stanami zapalnymi narządu rozrodczego*)

Z Instytutu Fizjologii i Biochemii Zwierząt AR-T w Olsztynie

Spośród szeregu składników chemicznych plazmy nasienia zwierząt na szczególną uwagę zasługują białka. Syntetyzowane pod kontrolą hormonów płciowych w dodatkowych gruczolach płciowych i jądrach stanowić mogą ważną informację o stanie czynnościowym narządu rozrodczego (2, 19).

Wysoka złożoność i polimorfizm białek plazmy nasienia wpływają na ich właściwości immunologiczne (10, 14). Obserwacje Weila i wsp. (24, 25), stwierdzające obecność w plazmie nasienia tzw. okrywowych antygenów plemnika a ostatnio podkreślenie ich roli fizjologicznej w procesie zapłodnienia komórki jajowej (7, 13), zapoczątkowały intensywny okres badań właściwości immunologicznych tkanek narządu rozrodczego i ich wydzielin (3, 4, 5, 11).

Szereg substancji białkowych wydzielanych przez gruczoły płciowe, posiadając właściwości immunogenne, odgrywa jednocześnie ważną rolę w metabolizmie nasienia. Bowiem wiele z antygenów plazmy nasienia wykazuje właściwości białek enzymatycznych (18, 19, 21, 22, 23).

Ostatnio szereg autorów (3, 11, 20) wykazało w tkankach i płynach pęcherzyków nasiennych oraz gruczołu krokowego obecność specyficznych tkankowych autoantygenów wywołujących stany zapalne tych narządów. Yantorno i wsp. (26) drogą autoimmunizacji królików plazmą nasienia wywołali alergiczne zapalenie jąder.

Stwierdzone w poprzedniej pracy zmiany biochemiczne w białkach plazmy nasienia buhajów ze stanami zapalnymi narządu rozrodczego, skłoniły nas do podjęcia próby oceny zmian immunologicznych w tych białkach oraz wpływu przeciwciał na metabolizm nasienia i przemytych plemników.

Materiał i metody

Do badań użyto surowic odpornościowych wobec plazmy nasienia z normospermia (anty-plazma N) oraz plazmy nasienia patologicznego (anty-plazma A, anty-plazma B), uzyskanego bezpośrednio przed ubojem dwóch buhajów objętych obserwacją w poprzedniej naszej pracy (Med. wet. cz. VI). Buhaje wybrakowano ze względu na stany zapalne narządu rozrodczego.

Immunizacji królików rasy białej duńskiej z zastosowaniem pełnego adjuwantu Freund'a prod. Difco USA, dokonano według schematu Hafsa i Huntera (6). Króliki kontrolne otrzymywały w dawkach iniekcyjnych zamiast plazmy nasienia 0,85% NaCl z pełnym

*) Praca została wykonana w ramach problemu resortowego 132 E, „Biologia rozrodu zwierząt i organizacja sztucznego unasienniania” — koordynowanego przez Instytut Zootechniki.