

томов течки. Свиноматки группы III и IV подвергали естественной случке во время появления половой толеранции. Результаты опороса были следующие: I группа 40%, II — 33,3%, III — 60% и IV — 71,4%. Полученные результаты повидимому указывают что самые лучшие результаты в отношении провокации течки и овуляции Пролан S Bayer дает у очень молодых свиноматок.

Kotowski K. — Preliminary observations on the usefulness of Prolan S (Bayer production) in the synchronization of oestrus in gilts.

The studies were performed on 52 gilts, Polish great white breeding, at the age of 7—8 months,

weighing 80—110 kg. The animals were given Prolan S at the dose of 2.0 ml per animal. Then the gilts were divided into four groups, and the animals from 1 and 2 group were inseminated after 4—5 days since the application of the drug, irrespectively of the appearance of oestrus. On the other hand, the gilts from 3 and 4 group were covered naturally in the time of the appearance of sexual tolerance. There were obtained the following results of farrowings: in group 1—40%, 2—33.3%, 3—60% and 4—71.4%. The authors suggest that the best results with Prolan S in provocation of oestrus and ovulation could be obtained in very young gilts.

WŁADYSŁAW BIELAŃSKI, ADAM OKÓLSKI, MARIAN TISCHNER

Wstępne badania nad luteolitycznymi czynnikami nasienia ogierów*)

Z Zespołu Rozrodu Instytutu Stosowanej Fizjologii Zwierząt AR w Krakowie

W nowszym piśmiennictwie z zakresu rozrodu stosunkowo często spotyka się termin „luteoliza”, który oznacza regresję aż do całkowitego zaniku ciała żółtego oraz zahamowanie wydzielania progesteronu. Jednym z głównych związków o działaniu luteolitycznym jest prostaglandyna F₂ alfa. Wprowadzenie podskórne 1,25—10 mg prostaglandyny F₂ alfa lub 100—250 µg syntetycznych analogów prostaglandyny klaczy będącej w fazie aktywności ciała żółtego (np. pomiędzy 4 a 14 dniem cyklu) powoduje luteolizę ciała żółtego i wystąpienie rui w ciągu 2—4 dni a następnie owulację pomiędzy 7 a 10 dniem (1, 6). Środki o działaniu luteolitycznym mogą mieć zatem zastosowanie dla skracania cyklu rujowego, leczenia samic w przypadkach przedłużającego się okresu czynności ciała żółtego, wywoływania synchronizacji rui i owulacji i in. (1, 2, 7).

Pomimo, że prostaglandyna została wykryta początkowo w nasieniu człowieka i tryka (13), dotychczas bardzo mało uwagi zwracano na luteolityczne właściwości nasienia samców. Z praktyki niektórych stadnin koni wynika, że w przypadkach przedłużającego się okresu bezrujowego klaczy stosowano tzw. krycie klaczy „na siłę”. Zwykle po kilku dniach po tym zabiegu obserwowano wystąpienie rui (9). Ten bardzo drastyczny zabieg połączony z ryzykiem traumatycznych uszkodzeń zarówno klaczy jak i ogiera nie może być oczywiście zalecany dla praktyki. Nasuwa się jednak pytanie, czy czynnikiem prowokującym ruję jest efekt mechanicznego oddziaływania zabiegu krycia „na siłę”, czy też wpływ samego nasienia.

Materiał i metody

Do badania użyto 5 klaczy, typu ogólnoużytkowego, w wieku 5—20 lat, o ciężarze około 450 kg. W trakcie

trwania doświadczenia (okres zimowo-wiosenny) klacze te były systematycznie badane w kierunku wykrycia zewnętrznych objawów rui i zmian w jajnikach. Klacze, które były co najmniej 6 dni po owulacji lub klacze, u których co najmniej przez okres 24 dni brak było objawów rui, otrzymywały przez dwa kolejne dni po 30 ml świeżego nasienia ogierów. Nasienie od ogierów pobierano przy użyciu sztucznej pochwy „otwartej” model Kraków-72 (11) i było wolne od zanieczyszczeń bakteryjnych.

Kontrola doświadczalna polegała na wstrzykiwaniu do macicy również przez dwa kolejne dni fazy lutealnej cyklu po 30 ml roztworu fizjologicznego podgrzanego do temperatury +38°C.

Dalszą część badania czynników luteolitycznych nasienia ogierów przeprowadzono na samicach królika. W tym celu u 33 królic wywołano owulację przez dożylne podanie po 100 j.m. gonadotropiny kosmówkowej („Biogonadyl” — produkcji Polfa). Następnie podzielono króliki losowo na 3 grupy: A i B — kontrolną i grupę C — doświadczalną. U wszystkich królików przeprowadzono laparotomię, badając makroskopowo stan jajników i wprowadzano w 2 kolejnych dniach bezpośrednio do macicy przez nakłucie jej ściany igłą strzykawki: grupie kontrolnej „A” po 2 ml płynu fizjologicznego, grupie kontrolnej „B” po 200 µg prostaglandyny F₂ alfa (produkcji Upjohn Company) w 2 ml płynu fizjologicznego oraz grupie doświadczalnej „C” po 2 ml świeżego nasienia ogiera. Zabiegi te dokonywano w 5 i 6 lub 9 i 10 dniu po owulacji. W 48 godzin po ostatnim zabiegu, celem określenia luteolitycznego efektu wykonywano ponownie laparotomię i przeprowadzono makroskopowe obserwacje jajników a następnie pobierano je do badań histologicznych.

Wyniki

Na 5 klaczach wykonano ogółem 14 zabiegów wstrzykiwania nasienia do ich macicy. U 4 klaczy w 2—9 dni po zabiegu wystąpiła ruj a wzrost pęcherzyka Graafa. W 7 przypadkach nastąpiła owulacja w 10 lub 11 dniu po zabiegu, a w 5 przypadkach stwierdzono w 8 lub 9 dniu po zabiegu wstrzykiwania nasienia zmniejszenie się pęcherzyka Graafa (atrezja). U jednej klaczy, która nie wykazywała wcześniej cyklu rujowego i była w okresie bezrujo-

*) Praca wykonana w ramach problemu 09.3.1.3.5.5. koordynowanego przez Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN.

wym, na co wskazywał również stan jajników, dwukrotne zabiegi wstrzykiwania nasienia do macicy nie dały żadnego efektu, tak w postaci rui jak i wzrostu pęcherzyka Graafa.

Kontrolne wprowadzanie płynu fizjologicznego (4 próby) nie dało u żadnej z badanych klaczy efektów klinicznych.

Badanie luteolitycznych właściwości nasienia ogierów na królicach wykazało brak zmian makroskopowych w liczbie, wielkości i barwie ciałek żółtych u wszystkich grup badanych królików. Natomiast obrazy histologiczne jajników królic wykazywały: w grupie kontrolnej A — komórki luteinowe w pełni rozwinięte, z wyraźnymi jądrami i dobrze wybarwioną drobnoziarnistą plazmą. W grupie kontrolnej B — otrzymującej prostaglandynę F_2 alfa nastąpiło kurczenie i zanikanie jąder komórkowych oraz zmiany w plazmie, polegające na jej ubytku (wakuolizacja). W grupie doświadczalnej C — otrzymującej nasienie ogierów, ciała żółte wykazywały podobny obraz jak w grupie B — z tym, że w poszczególnych komórkach luteinowych zmiany wsteczne nie były tak intensywnie zaznaczone, zwłaszcza w jądrach komórek.

O mówienie wyników

Wprowadzenie do macicy klaczy nasienia ogierów w okresie czynnego ciała żółtego wywołało wystąpienie rui i wzrost pęcherzyka Graafa. Obserwacje te jak i bezpośrednie badania na królikach wskazują, że w nasieniu ogierów znajduje się czynnik luteolityczny. Można zatem przypuszczać, że mechaniczne bodźce przy tzw. kryciu klaczy „na siłę”, nie odgrywają głównej roli w prowokowaniu rui i owulacji u klaczy.

Cykliczne ciała żółte nie ma z góry ustalonego okresu trwania, lecz ulega ono regresji dopiero pod wpływem hormonów luteolitycznych uwalnianych z błony śluzowej macicy (2, 6, 10). Wśród lekarzy praktyków jest ogólnie znany sposób prowokowania rui i owulacji u klaczy w okresach bezrujowych, polegający na stosowaniu wlewów domacicznych w ilości 500—1000 ml lekko podgrzanego płynu fizjologicznego. Po takim zabiegu duży procent klaczy wykazuje ruję w ciągu 3—4 dni a następnie owulację, zwłaszcza w sezonie wiosennym. Te domaciczne wlewy roztworu fizjologicznego działają prawdopodobnie na drodze aktywizacji mechanizmów luteolitycznych, zlokalizowanych w błonie śluzowej macicy. Wprowadzanie przez nas (kontrolne) tylko 30 ml roztworu fizjologicznego u żadnej z obserwowanych klaczy nie spowodowało wystąpienia rui i zmian w jajnikach.

Hertelendy (8) przy użyciu metod radioimmunologicznych wykazał, że plazma nasienia ogiera zawiera 3 grupy prostaglandyn w następujących ilościach: PGE — 6,4 ng/ml, PGF — 1,4 ng/ml, oraz PGA — 1,6 ng/ml. Można zatem przypuszczać, że obserwowane przez nas wcześniej zjawisko luteolityczne u klaczy (3)

i królic (12) po wstrzykiwaniu nasienia ogierów do ich macicy mogło być efektem kompleksowego działania czynników luteolitycznych, zawartych w nasieniu ogierów i błonie śluzowej macicy.

Ogólnie przyjęta hipoteza podaje, że czynnik luteolityczny opuszcza macicę poprzez główne żyły maciczne, z których w części przedniej macicy przechodzi bezpośrednio do ściśle do nich przylegającej tętnicy jajnikowej, skąd następnie przenika do ciała żółtego (7). Ten charakterystyczny układ morfologiczny naczyń maciczno-jajnikowych jest bardzo zbliżony u klaczy (5) i królic (6). Dotychczas jednak nie wyjaśniono bliżej mechanizmu przechodzenia czynnika luteolitycznego bezpośrednio z żył do przylegających tętnic. Z kolei wiadomo, że efekt luteolityczny można uzyskać o wiele mniejszymi dawkami prostaglandyn przy ich domacicznym podawaniu. Jednakże przy tym sposobie podawania istnieje duże niebezpieczeństwo infekcji macicy, szczególnie przy użyciu nasienia zanieczyszczonego bakteriami.

Bardzo kosztowne prostaglandyny lub analogi prostaglandyn produkowane tylko w niektórych krajach zachodnich stwarzają pilną konieczność szukania nowych tańszych rozwiązań. Istnieje zatem potrzeba badań farmakologicznych nasienia, gdyż może okazać się, że odpowiednio przygotowane wyciągi z nasienia stworzą możliwość sporządzenia tańszych preparatów o skutecznym działaniu luteolitycznym.

Wnioski

1. Nasienie ogierów zawiera czynnik powodujący luteolizę zarówno u klaczy jak i królików.

2. Istnieje potrzeba dalszych badań nad czynnikami luteolitycznymi nasienia samców, celem wykorzystania ich w zabiegach związanych ze sterowaniem cyklem rujowym i owulacją u samic.

Piśmiennictwo

- Allen W. R., Rowson L. E. A.: J. Reprod. Fert. 33, 539, 1973.
- Allen W. R., Rosedale P. D.: Equine vet. J. 5, 137, 1973.
- Bielanski W., Tischner M., Zapletal Z.: Bull. Acad. pol. Sci. Ser. Sci. biol. Cl. V., 7—9, 519, 1974.
- Del Campo C. H., Ginther O. J.: Am. J. vet. Res. 33, 2561, 1972.
- Del Campo C. H., Ginther O. J.: Am. J. vet. Res. 34, 305, 1973.
- Douglas R. H., Ginther O. J.: Prostaglandins 2, 265, 1972.
- Ginther O. J.: Archivos de Med. vet. de Chile 5, 57, 1973.
- Hertelendy F.: J. Reprod. Fert. 40, 87, 1974.
- Jaworowski J.: Informacje ustne, 1974.
- Moore R. N.: J. Anim. Sci. 27, 97, 1968.
- Tischner M., Kosiniak K., Bielański W.: J. Reprod. Fert. 41, 329, 1974.
- Tomaszewska-Wodzicka M., Okólski A., Bielański A., Bielański W.: J. Reprod. Fert. 44, 297, 1975.
- Von Euler U. S.: Arch. exp. Path. Pharmac. 175, 78, 1934.

Adres autora: prof. dr Władysław Bielański, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków.

Беляньски В., Окульски А., Тишнер М. — Предварительные исследования лутеолитических факторов семени жеребцов.

Свежеотобранные образцы семени жеребцов вводили в матку кобыл и по лапаротомии в матку крольчих в лютеальной фазе цикла. Из 5 кобыл 4 систематически реагировали на 3—4 день после введения семени жеребцов появлением симптомов течки, а также увеличением фолликулов Граафа.

У крольчих лютеолитический эффект семени обнаруживался особенно четко в форме гистологических изменений в лютеиновых клетках желтых теллец. Полученные результаты указывают что семя жеребцов содержит лютеолитический фактор который действует так как простагландин F₂ альфа.

Bielński W., Okólski A., Tischner M. — Preliminary studies on the luteolytic factors in the semen of stallions.

The semen of stallions, freshly collected was introduced in a luteal phase of cycle into the uterus of mares and laparatomized rabbits. In 4 out of 5 mares systematically appeared the signs of oestrus and growth of Graff's vesicles after 3—4 days since the insemination. In rabbits luteolytic effect of stallions semen manifested especially clearly in the form of histological changes of luteine cells of the yellow bodies. The obtained results showed that stallions' semen contained an luteolizing agent of prostaglandin F₂ alpha-like activity.

STEFAN WIERZBOWSKI, DANUTA SZMYD

Zanieczyszczenia bakteryjne nasienia mrożonego*)

Z Zakładu Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasieniania Instytutu Zootechniki w Balicach k. Krakowa

Przeprowadzone badania nad możliwością zakażenia się nasienia mrożonego w kulkach w czasie przechowywania w ciekłym azocie wykazały, że tego rodzaju niebezpieczeństwo może występować w określonych warunkach (1, 2, 3, 4, 5). Ponieważ warunkiem tym wydaje się być określony stopień koncentracji bakterii w nasieniu (4), przeprowadzone zostały dalsze badania, których celem było zebranie informacji w zakresie stopnia zanieczyszczenia bakteryjnego nasienia mrożonego w kulkach, używanego w praktyce inseminacyjnej. Systematyczną kontrolą bakteriologiczną objęto nasienie przeznaczone do składowania w Centralnym Banku Nasienia. Równocześnie kontrola ta miała na celu niedopuszczenie do składowania w CBN ejakulatów zanieczyszczonych drobnoustrojami patogennymi i warunkowo-patogennymi oraz zapobieżenie niebezpieczeństwu zakażenia nasienia składowanego w CBN w okresie przechowywania.

Materiał i metody

Do badań wykorzystywano nasienie mrożone w kulkach, pochodzących od buhajów użytkowanych rozplodowo, uznanych za wolne od brucelozy, tbc, mętwika płodowego i rżęsiatka bydłowego. Przebadano 2856 ejakulatów pochodzących od 461 buhajów z 48 Państwowych Zakładów Unasieniania Zwierząt. Metodyka badania nasienia oparta była na instrukcji wydanej przez Departament Weterynarii.

Przed przystąpieniem do analizy bakteriologicznej rozmrażano nasienie w temp. 40°C. Dla ustalenia stopnia zanieczyszczenia nasienia pobierano z każdego ejakulatu 0,5 ml i sporządzano rozcieńczenie w jałowym roztworze NaCl w stosunku od 1:100 do 1:10 000. Następnie z każdego rozcieńczenia wysiewano po 0,05 ml na 3 płytki agaru z 5% dodatkami odwiłkniętej krwi baraniej oraz na 3 płytki agaru zwykłego. Płytki inkubowano 48 godzin w temp. 37°C oraz przetrzymywano 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po zakończeniu inkubacji obliczano ilość kolonii na każdej płytce, wyliczano średnią i po przemnożeniu przez odpowiedni współczynnik uwzględniający stopień rozcieńczenia otrzymywano ilość drobnoustrojów w 1 ml nasienia mrożonego.

*) Praca wykonana w ramach problemu 132-E, koordynowanego przez Instytut Zootechniki.

Równoległe z badaniem ilościowymi przeprowadzono analizę jakościową. W tym celu rozmrożoną próbkę nasienia wysiewano na płytki z agarem zwykłym oraz z agarem z krwią. Płytki inkubowano jw. Następnie stosując rutynowe metody bakteriologiczne dokonywano identyfikacji drobnoustrojów z uwzględnieniem rodzajów dominujących w posiewie. Szczególną uwagę zwracano na drobnoustroje uważane za fakultatywnie patogenne, a mianowicie: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β hemolyticus*, *Corynebacterium pyogenes*. Ejakulatory, w których wyizolowano przynajmniej jeden z wyżej wymienionych drobnoustrojów, dyskwalifikowano jako nie nadające się do składowania w CBN.

Nasienie, przeznaczone na eksport oraz pochodzące z importu, poddawano badaniu bakteriologicznemu według metody podanej wyżej, poszerzonej o przepisy zawarte w instrukcji wydanej przez Komisję Rolną RWPg w Pradze w styczniu 1970 r.

Wyniki

Spośród 2856 przebadanych ejakulatów jedynie 115, czyli 4% było wolnych od zanieczyszczeń bakteryjnych. Średnio w 1 ml nasienia znajdowało się 178 842 bakterie. Zawierających nie więcej jak 5000 bakterii było 996

Tab. 1. Liczba bakterii stwierdzonych w 1 ml nasienia mrożonego

Bakterii w 1 ml nasienia (w tys.)	Ejakulatów	
0—100	2.119	(74,19%)
100—200	205	(7,17%)
200—300	109	(3,81%)
300—400	59	(2,06%)
400—500	42	(1,47%)
500—600	22	(0,7%)
600—700	25	(0,8%)
700—800	26	(0,9%)
800—900	19	(0,6%)
900—1.000	16	(0,5%)
1.000—1.100	14	(0,4%)
1.100—1.200	12	(0,4%)
1.200—1.300	14	(0,4%)
1.300—1.400	6	(0,2%)
1.400—1.500	6	(0,2%)
> 1.500	162	(5,7%)
Razem	2.856	(100,0%)