

8. Laitová L., Kapločky M.: Ziv. Vyroby, 25, 3, 1980.
9. Monkiewicz J., Jasek St.: Medycyna Wet., 30, 178, 1974.
10. Pawlík J.: Biul. CSOP Czechnica 4, 31, 1974.
11. Potkański A.: Post. Drobiarstwa 11, 1, 1969.
12. Tkacev I. F., Semin V. N., Buchtjarova V. N.: Vest. sel-choz. Nauk. 9, 73, 1970.
13. Zile M. H., Bunge R. C., De Luca H. F.: J. Nutr. 109, 10, 1967.

Adres autora: prof. dr habil. Dorota Jamroz, ul. Ukryta 18/5, 50-334 Wrocław

Ямроз Д., Пакульская Э., Белинский К., Потканьский А., Вошчик Я., Карасинский Д. — Уровень каротинов и витамина А в сыворотке крови и печени гусак, кормленных растущими дозами этих веществ в концентрированных смесях

В исследованиях, проведенных в период 42 дней на 32 молодых гусаках, разделенных по жребью на 8 групп, скармливали концентрированные смеси со стандартным содержанием вит. А (10 000 м.е.) и растущего количества каротинов от 12 до 49 мг/кг (группы I—IV), а также препарата Polfasol AD₃, соответствующего количеству витамина А от 6000 до 18 000 м.е./кг (группы Va—Vc). Применение этих смесей вызвало непропорциональные к дозам

каротинов или вит. А колебания их концентрации в сыворотке крови. Не наблюдали закономерностей разниц в степени кумуляции вит. А в печени по мере увеличения уровня каротинов или вит. А в смесях.

Jamroz D., Pakulska E., Bieliński K., Potkański A., Woszczyk J., Karasiński D. — The level of carotens and vit. A in the serum and liver of geese fed increasing doses of these components in fodder

The examinations were carried out for 42 days on 32 young geese divided into 8 groups at random and fed mash containing the standard content of vit. A (10 000 IU) and an increasing quantity of carotins, i.e. from 12 to 49 mg/kg (groups I—IV), and the preparation Polfasol AD₃ corresponding to 6000—18 000 IU of vit. A (groups Va—Vc). The use of the mashes brought about a changeable concentration of carotins and vit. A independently on their level in feed. There was not any regularity regarding vit. A cumulation in the liver along with an increase of carotins or vit. A in mash.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

WILLIAM R. ALLEN, MARTIN BOYLE, MARIA CZŁONKOWSKA*, MARIAN TISCHNER**

Międzynarodowa wymiana mrożonych zarodków koni

TBA, Equine Fertility Unit, Animal Research Station, 307 Huntingdon Road, Cambridge, Anglia
* Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, 05-551 Mroków
** Katedra Rozrodu Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Przechowywanie zarodków w ciekłym azocie zostało już stosunkowo dobrze opracowane u bydła (4, 7, 12, 14). Natomiast zarodki koni okazały się bardziej wrażliwe na działanie niskich temperatur i pomimo szeregu prób konserwacji w ciekłym azocie przeprowadzonych pod koniec lat siedemdziesiątych m.in. również w Polsce, nie udało się w tym okresie uzyskać na tej drodze źrebiąt. Dopiero Japończycy w 1982 r. (15) uzyskali pierwsze dwa źrebięta po zamrożonych i przeszczepionych zarodkach. Następnie dwa źrebięta po zarodkach zamrożonych urodziły się w USA i jedno w Anglii w 1984 r. (2, 9).

Celem opisanego eksperymentu były dalsze badania nad mrożeniem zarodków koni i próba ich międzynarodowej wymiany.

Materiał i metody

Pozyskiwanie zarodków.

Do eksperymentów użyto koni doświadczalnych należących do Angielskiego Towarzystwa Hodowców Koni Pełnej Krwi (Cambridge) oraz Akademii Rolniczej w Krakowie. Zarówno u klaczy w Anglii, jak i w Polsce, ruję wykrywano przy pomocy ogiera próbnika, a od 2—3 dnia ruję kontrolowano rozwój pęcherzyka Graafa badaniem jajników przez prostnicę, a dodatkowo w Anglii poprzez określanie poziomu progesteronu w surowicy krwi. Większość klaczy

była pokrywana przez ogiera w sposób naturalny, lub też unasieniana świeżym nasieniem. Zarodki pozyskiwano metodą bezkrwawą wg Allena (1), przy użyciu jałowego cewnika typu Foley'a używanego powszechnie dla pozyskiwania zarodków u bydła. W Anglii do płukania macicy klaczy używano płynu Dulbecco z dodatkiem 0,4% surowicy bydlęcej i antybiotyków (pożywką PBI) wg Whittingham (11). W Krakowie natomiast stosowano płyn Parkera produkowany przez Wytwórnię Surowic i Szczepionek w Lublinie. Pozyskiwanie zarodków przeprowadzano w 6—7 dniu po owulacji. Po przygotowaniu klaczy wg ogólnych zasad, płyn poćgrzany do temperatury ciała wlewano powoli do macicy, a następnie zlewano bezpośrednio do sterylnego naczynia. Do jednego płukania używano od 400—1200 ml płynu.

Zamrażanie zarodków.

Po wypłukaniu zarodków przetrzymywano je w temperaturze pokojowej w 20 ml pożywki PBI przez okres 30 do 120 minut. Zamrażanie zarodków przeprowadzono wg zmodyfikowanej metody Willadsena (13) opracowanej dla bydła i owiec. Jako środka osłaniającego używano 10% glicerolu. Zarodki poddawano ekwilibracji we wzrastającej koncentracji glicerolu (od 2,5% poprzez 5,0—7,5, aż do 10%), a następnie przenoszono do szklanych probówek zawierających 0,25 ml pożywki mrożeniowej (10% glicerolu w PBI). Schładzanie zarodków przeprowadzano przy użyciu kontroli komputerowej, umieszczając probówki z zarodkami w maszynie mrożeniowej (Model R-202, Planar Products). Schładzanie rozpoczynano od temp. +24°C z szybkością 1°C/min. Następnie przy temp. -6°C przeprowadzano tzw. posiewanie tj. zetknięcie ścianek probówki z pincetą oziębioną w ciekłym azo-

cie. Od temp. -6°C do -33°C zwolniono szybkość mrożenia do $0,3^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Po uzyskaniu końcowej temperatury mrożenia (-33°C), zarodki poddawano ekwilibracji przez 15 min, a następnie zanurzano je bezpośrednio w ciekłym azocie (-196°C). Zamrożone zarodki przetrzymywano w temperaturze ciekłego azotu przez okres od 2 tygodni do 3 miesięcy. Transport zarodków z Anglii do Polski i z Polski do Anglii odbył się drogą lotniczą.

Rozmrażanie zarodków.

Zarodki rozmrażano gwałtownie, przenosząc próbkę zawierającą zarodki z kontenera z ciekłym azotem do łaźni wodnej o temp. $+37^{\circ}\text{C}$. Następnie usuwano stopniowo glicerol przez przekładanie zarodków do pożywek zawierających coraz to niższe jego stężenie (10,0; 7,5; 5,0; 2,5% PBI). Po całkowitym usunięciu glicerolu, zarodki przenoszono do czystej pożywki PBI, w której pozostawały przez okres od 10–30 mi-

nut bezpośrednio przed przeszczepieniem.

Przeszczepianie zarodków.

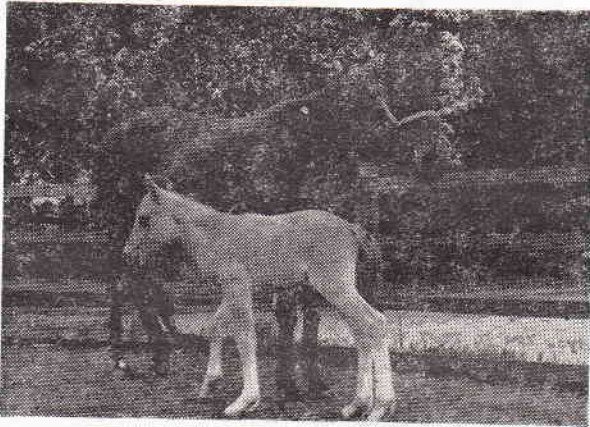
Synchronizacja owulacji pomiędzy klaczkami dawczyniami a biorczyniami wynosiła „-2” dni. W Krakowie od klaczy konik polski uzyskano dwa zarodki, zamrożono je, a następnie zostały przewiezione do Cambridge, gdzie je rozmrożono i przeszczepiono 2 klaczom rasy walijski kuc górski. W Cambridge natomiast uzyskano 7 zarodków od klaczy walijski kuc górski, gdzie je zamrożono, a następnie przewieziono do Krakowa i przeszczepiono 6 klaczom rasy konik polski i jednej klaczy zimnokrwistej.

Wszystkie zamrożone i rozmrożone zarodki przeszczepiano sposobem krwawym. W Cambridge laparotomię u klaczy przeprowadzano w linii białej przy pełnej narkozie wg Allena (1). W Krakowie natomiast laparotomię wykonywano w ślabinie brzusznej, przy ogólnym oszołomieniu klaczy trankwilizatorem (Domosedan; Farnos Ltd., Finland) oraz znieczuleniu miejscowym 2% lignocainą z dodatkiem adrenaliny.

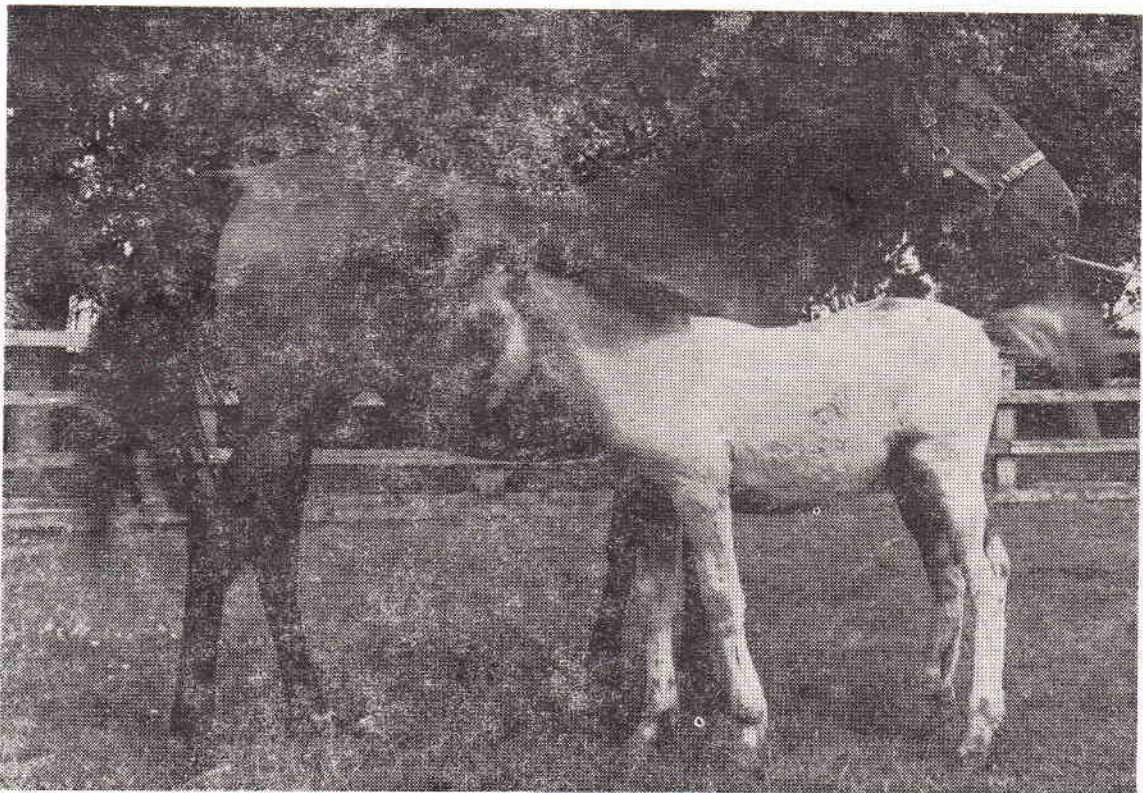
Ciążę u klaczy diagnozowano już od 16 dnia po owulacji przy pomocy ultrasonografu (6) oraz badania manualnego przez prostrnicę.

Wyniki i omówienie

Spośród 2 zarodków zamrożonych w Krakowie i przeszczepionych klaczom w Cambridge uzyskano jedną ciążę zakończoną urodzeniem źrebięcia (ryc. 1). Zarówno ciąża, jak i poród miały przebieg normalny, a urodzony tą drogą ogierek nazwany „Winston” okazał się silnym i zdrowym źrebięciem ważącym zaraz po urodzeniu 42 kg. Już 10 min. po urodzeniu wstał o własnych siłach, a po następnych 20 minutach ssał mleko przybranej matki. Ze względu na charakterystyczne cechy rasy konika polskiego, źrebię to wzbudziło ogólne zaintereso-



Ryc. 1. Źrebię rasy konik polski (kilka godzin po urodzeniu) urodzone 8 maja 1985 r. w Cambridge w wyniku przeszczepienia zarodka przewiezonego z Krakowa w ciekłym azocie



Ryc. 2. Ogierek „Winston” w wieku 2 miesięcy

wanie w Anglii. Jest to kolejne 6 źrebię urodzone po przeszczepieniu zamrożonego zarodka konia.

Druga klacz powtórzyła ruję w 16 dniu po ewolucji. Natomiast spośród 7 zarodków zamrożonych w Anglii i przeszczepionych klaczom w Krakowie nie uzyskano żadnej ciąży. Pięć klaczy powtórzyło ruję w okresie do 3 tygodni po owulacji, a pozostałe dwie w 30 dniu po owulacji.

Obecnie trudno jest jednoznacznie określić jakie czynniki wywierają wpływ na słabe efekty przeszczepiania mrożonych zarodków u koni. Wcześniejsze obserwacje własne (10), a także badania Oguri i Tsutsumi (5) przeprowadzane na zarodkach świeżych i przeszczepianych sposobem bezkrwawym wykazały dobre efekty przeszczepiania zarodków w tych przypadkach, gdy klacz bioreczni owulowała o dwa dni później „-2” w stosunku do klaczy dawczyni. Przeszczepiając zarodki mrożone uzyskano w Anglii dwie ciąży, a następnie jedno wyżrebienie (2). Obecnie, pomimo że tylko dwa zarodki przeszczepiono klaczom w Anglii uzyskano przy tej technice 50% powodzenia. Natomiast dużym rozczarowaniem był negatywny efekt przeszczepiania zarodków klaczom w Krakowie, tym bardziej, że co najmniej 5 rozmrożonych zarodków przywiezionych z Anglii wykazywało bardzo dobry stan morfologiczny. Jednym z czynników, który mógł być główną przyczyną niepowodzenia była prawdopodobnie zastosowana do tego celu technika laparotomii, polegająca na otwarciu jamy brzusznej w słabiznie klaczy. W przeszłości wielu autorów stosowało technikę cięcia ściany brzusznej w linii białej, przy ogólnej narkozie i użyciu do przeszczepiania świeżych zarodków koni uzyskując rutynowo od 65—75% zażrebień (1). Douglas (3), Squiers i wsp. (8) zastosowali również z powodzeniem technikę laparotomii w słabiznie brzusznej klaczy do przeszczepiania świeżych zarodków. Całość zebranych informacji wskazuje, że niepowodzenia przeszczepiania mrożonych zarodków u koni mogą wiązać się nie tylko ze sposobem zamrażania i rozmrażania zarodków, ale również z techniką operacyjną, metodami oszłamiania i znieczulenia miejscowego klaczy. Problem ten wymaga dalszych uzupełniających badań.

Piśmienictwo

- Allen W. R.: Mammalian Egg Transfer. Wyd. C. E. Adams, CRC Press, Florida, 1982, s. 135—154.
- Boyle M. S., Allen W. R., Tischner M., Członkowska M.: Equine vet. J. Suppl. 3, 36, 1985.
- Douglas R. H.: Theriogenology 11, 33, 1979.
- Lehn-Jensen H.: Proc. 9th Int. Cong. Anim. Reprod. A. I., Madrid, 3, 461, 1980.
- Oguri N., Tsutsumi Y.: W: In vitro fertilization and embryo transfer. Wyd. E. S. E. aHfz i K. Semm, M. P. T. Press, Lancaster, 1982, s. 287—295.
- Simpson Z., Greenwood R. E. S., Richetts S. W., Rossdale P. D., Sanderson M., Allen W. R.: J. Reprod. Fert. Suppl. 32, 431, 1982.
- Smorąg Z., Wierzbowski S., Wierzchoś E., Katska L., Gajda B.: Medycyna Wet. 35, 299, 1979.
- Squiers E. L., Imel K. J., Iuliano M. F., Shideler R. K.: J. Reprod. Fert. Suppl. 32, 409, 1982.

- Takeda T., Elsdon R. P., Squiers E. L.: Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Urbana-Champaign, 2, 246, 1984.
- Tischner M.: Medycyna Wet. 38, 346, 1982.
- Whittingham D. G.: Nature, Lond. 220, 592, 1968.
- Willadsen S. M., Polge C., Rowson L. E. A.: J. Reprod. Fert. 52, 391, 1978.
- Willadsen S. M.: Proc. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid 2, 255, 1980.
- Wilmot I., Rowson L. E. A.: Vet. Rec. 92, 686, 1973.
- Yamamoto Y., Oguri N., Tsutsumi Y., Hachinohe Y.: J. Reprod. Fert. Suppl. 32, 399, 1982.

Adres autora: prof. dr hab. Marian Tischner, ul. Koniewa 59/20, 30-150 Kraków

Аллен У. Р., Бойле М., Члонковская М., Тишнер М. — Международный обмен замороженными зародками лошадей

Провели эксперимент по обмену замороженными зародками лошадей между Англией и Польшей. Из 2 зародышей, замороженных в Польше и трансплантированных 2 кобылами в Англии, получили 1 жеребенка. Из 7 же зародышей, замороженных в Англии и трансплантированных кобылам в Польше, не получили ни одной беременности, помимо того, что по крайней мере 5 зародышей, привезенных из Англии, показывало нормальное морфологическое состояние после их разморозжения. Авторы предполагают, что причиной неуспеха трансплантации зародышей в Польше была техника лапаротомии, заключающаяся в раскрытии брюшной полости в паху кобылы. В Англии лапаротомию выполняли в белой линии.

Allen W. R., Boyle M., Członkowska M., Tischner M. — International exchange of frozen horse embryos

The experiment consisted in the exchange of horse embryos between England and Poland. Of two frozen embryos from Poland transferred to mares in England, one foal resulted, but out of seven frozen embryos from England transferred to mares in Poland no pregnancies took place, though at least five of those embryos were found to be normal morphologically after thawing. The poor results obtained in Poland were probably caused by the method of transfer, i.e. flank laparotomy. In England, mid-ventral laparotomy was used.

KUTTLER K. L., ZAUGG J. L., JOHNSON L. W.: Odpowiedź serologiczna i kliniczna preimmunizowanego szczepionego i uprzednio zakażonego bydła na zakażenie dwoma szczepami *Anaplasma marginale*. (Serologic and clinical responses of preimmunized vaccinated and previously infected cattle to challenge exposure by two different *Anaplasma marginale* isolates). Am. J. vet. Ass. 45, 223—225, 1984 (11).

Badania przeprowadzono z dwoma szczepami *Anaplasma marginale* (Virginia-VAM i Florida-FAM) na 22 krowach w wieku $4,3 \pm 1,8$ lat zakażonych szczepem FAM i poddanych challenge szczepem FAM lub VAM, 6 splenektomizowanych cielętach zakażonych szczepem FAM lub VAM i na 28 krowach szczepionych dwukrotnie w odstępie 4 tygodni szczepionką handlową przeciwko A marginale. Objawy kliniczne nie występowały u nosicieli i krów zakażonych poddanych challenge szczepem VAM lub FAM. U nosicieli po zakażeniu szczepem heterologicznym występowała nieznaczna stopnia parazytemia i wzrastało miano swoistych przeciwciał w odczynie wiązania dopełniacza. Podobne zmiany występowały u krów uprzednio zakażonych po challenge zarówno szczepem homologicznym, jak i heterologicznym. Wyniki badań na splenektomizowanych cielętach wskazują na brak odporności krzyżowej między dwoma badanymi szczepami.

G.