

MARIAN TISCHNER, ADAM OKÓLSKI

## Problemy rozrodu koni przedstawione na sympozjach w Kanadzie i USA

Katedra Rozrodu Zwierząt AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

W 1986 roku odbyły się dwa ważne międzynarodowe sympozja poświęcone wyłącznie problemom rozrodu koni, które — naszym zdaniem — zasługują na szersze omówienie.

IV Międzynarodowe Sympozjum Rozrodu Koni odbyło się w dniach 24 do 29 sierpnia 1986 r. na Uniwersytecie Calgary w Kanadzie. Sympozja takie odbywają się co 4 lata, a głównym ich celem jest przedstawienie aktualnych osiągnięć naukowych z zakresu wszystkich zagadnień związanych z rozrodem koni. Nad stroną organizacyjną czuwa Międzynarodowy Komitet Organizacji Sympozjów Rozrodu Koni, składający się z 11 członków reprezentujących wszystkie kontynenty. Poszczególne członkowie Komitetu wybierani są na okres 8 lub 12 lat. Następnie spośród siebie wybierają przewodniczącego na okres 4 lat. Podstawowym zadaniem Komitetu jest organizowanie sympozjów, selekcja nadsyłanych prac i ich przygotowanie do druku. Całość materiałów jest później drukowana w formie dodatku do *Journal of Reproduction and Fertility* jako specjalny tom pt. „Rozród koni”. Dotychczas ukazały się już 3 takie książki, które stanowią pewną całość, obejmującą materiały z poprzednich sympozjów. Obecne materiały z IV sympozjum, które ukażą się w maju 1987 r., będą kolejnym czwartym tomem zawierającym najnowsze informacje z zakresu rozrodu koni.

Międzynarodowy Komitet Organizacji Sympozjów Rozrodu Koni od początku swego istnienia (1974) przyjął zasadę udzielania pomocy autorom prac zakwalifikowanych na sympozjum. Pierwsi autorzy zwalniani są z opłat wpisowych i otrzymują bezpłatne zakwaterowanie i wyżywienie na czas trwania sympozjum.

Na sympozjum do Calgary zgłoszonych zostało ponad 200 prac, z których 85 zakwalifikowano na sesję referatową i 42 na sesję plakatową. Łącznie prezentowano 127 prac z 18 krajów, w tym 2 z Polski.

Na pierwszej sesji metodologicznej dr F. Steward z Cambridge prezentowała badania z zakresu inżynierii genetycznej i biologii molekularnej. Dotyczyły one izolacji genów i określenia sekwencji aminokwasów w genach odpowiedzialnych za gonadotropiny przysadkowe i łożyskowe klaczy. Dr S. I. Alexander i wsp. z Nowej Zelandii wykazali u klaczy 3 różne formy FSH, których wzajemny stosunek zmie-

nia się w zależności od fazy cyklu rujowego, a oznaczany poziom FSH zależy w dużym stopniu od zastosowanej metody i użytych przeciwciał. W sesji tej prezentowano również komputerowy sposób oceny ruchliwości nasienia. Interesujące doniesienie przedstawił dr P. S. Strzeмиński, Amerykanin polskiego pochodzenia, który omówił ocenę nasienia ogierów przepuszczanego przez filtry chemotaktyczne. S. McDonell, Garcia i Kenney z USA prezentowali pracę na temat praktycznych możliwości leczenia zaburzeń popędu płciowego ogierów. Okazało się, że stosowanie środków psychotropowych (benzodiazepan, diazepam) skutecznie przywraca popęd płciowy u ogierów. Dotychczas ogiery takie były z reguły eliminowane z hodowli.

W innych badaniach stwierdzono, że w miarę dojrzewania ogierów zmienia się zależność koncentracji receptorów LH w jądrach od  $0,24 \times 10^{-11}$  M/mg frakcji membranowej w okresie 3—5 miesięcy do  $0,446 \times 10^{-11}$  u ogierów dwuletnich. U ogierów starszych w wieku do 23 lat średni poziom utrzymywał się w granicach  $1,222 \times 10^{-11}$ . Wykazano także, że poziom prolaktyny w surowicy krwi ogierów, podobnie jak u klaczy, wykazuje zmienność sezonową ze szczytem w okresie naturalnego sezonu rozrodczego (7,1 ng/ml) i najniższymi wartościami w okresie zimy (1,2 ng/ml). Niższy poziom występuje u ogierów młodszych.

Dr T. V. Little i dr G. L. Woods z Ithaca prezentowali doniesienie na temat zastosowania ultrasonografu do badań gruczołów dodatkowych u ogierów. Wykonane pomiary *in vivo* były prawie identyczne z pomiarami przeprowadzonymi na sekcji. Ultrasonograf stał się obecnie podstawowym wyposażeniem lekarzy weterynarii.

W sesji dotyczącej klaczy nieżrebnej prezentowano referaty na temat morfologii układu rozrodczego, funkcji oocytów i pęcherzyków, wywoływania rui i owulacji w różnych fazach aktywności rozrodczej klaczy oraz roli hormonów płciowych. W badaniach tych wykazano, że pęcherzykowa siateczka wewnątrzplazmatyczna jest dominującą strukturą cytoplazmy w oocyty klaczy. Okazuje się, że pęcherzyki jajnikowe klaczy podlegają około 14 dnia cyklu naturalnej selekcji, a poziom receptorów LH w osłonce pęcherzyka może być wskaźnikiem wyboru pęcherzyka owulującego

w najbliższej rui. Stosowanie jednorazowych podskórnych wszczepów GnRH (ICI 118630) powodowało wystąpienie rui i owulacji u 88% klaczy będących w fazie anestrus. Skrócenie czasu trwania rui i przyspieszenie owulacji uzyskano po zastrzykach 250 µg syntetycznych prostaglandyn podawanych około 84 godzin po rozpoczęciu rui. W innym doniesieniu przedstawiono poziom prolaktyny w cyklu rujowym klaczy. Uważa się, że wzrost tych hormonów w 15 dniu cyklu powoduje uwalnianie macicznych prostaglandyn i luteolizę. W tej sesji przedstawiono także kilka doniesień na temat zakażeń bakteryjnych i sposobów leczenia zapalen błony śluzowej macicy klaczy.

W kolejnej sesji poświęconej klaczy żrebnej przedstawiono prace na temat przeszczepiania zarodków, fizjologii i patologii ciąży. Przeszczepianie zarodków staje się obecnie powszechnie stosowaną metodą w hodowli koni. Metoda ta jest wykorzystywana dla zwiększenia plenności wybitnych klaczy, a także w przypadkach gdy np. klacz z różnych względów nie może donosić ciąży lub też gdy używana jest do celów sportowych.

Dr L. S. Squires z USA przedstawił wyniki badań nad kontrolą mnogich owulacji u klaczy. Okazało się, że ilość wydzielanego LH jest taka sama u klaczy o pojedynczej owulacji, jak i w przypadkach spontanicznych mnogich owulacji. Natomiast poziom progesteronu podczas okresu międzyrujowego jest znacznie wyższy u klaczy o podwójnej owulacji. Dyskutowano również nad zagadnieniem prowokowania mnogich owulacji. Dla tych celów stosuje się u klaczy wyciąg przedniego płata przysadki. Preparat ten podawany jest codziennie od 11 dnia cyklu przez 7 dni lub krócej, to jest do chwili, gdy pojawi się pęcherzyk Graafa o średnicy co najmniej 35 mm. W pierwszym dniu rui lub ostatnim dniu podawania wyciągu przedniego płata przysadki stosuje się 3000 do 4000 j.m. HCG. W wyniku takiego postępowania u około 70% klaczy występuje 3 do 4 owulacji. Uzyskane jednak na tej drodze zarodki dają tylko 33% ciąży, to jest o 20% mniej w porównaniu do zarodków uzyskanych po spontanicznej owulacji. Dodatkowy koszt związany z przygotowaniem preparatu, utrzymywanie większej liczby klaczy biorczyń powoduje, że zmniejsza się nieco zainteresowanie wykorzystaniem tej metody w praktyce przeszczepiania zarodków u klaczy. Wzrasta natomiast zainteresowanie oocytami jako potencjalnym źródłem zarodków. Na temat techniki pozyskiwania oocytów i oceny morfologicznej przedstawiono 4 prace, w tym jedną z Polski.

Tylko jedno doniesienie dotyczyło zamrażania zarodków klaczy. Wynika z niego, że w zarodkach koni występuje szczególna wrażliwość mitochondrii komórek wężła zarodkowego na proces zamrażania. Badania te wyjaśniają w

pewnym stopniu fakt, że tylko w sporadycznych przypadkach uzyskuje się źrebięta po przeszczepieniu mrożonych zarodków.

Wśród problemów dotyczących przeszczepiania zarodków należy zwrócić uwagę na poszukiwanie dróg uniezależnienia się od fazy cyklu rujowego klaczy biorczyń. K. Hinrichs, P. L. Sertich, R. Kenney z Uniwersytetu Pennsylvanii używali jako biorczyń zarodków klaczy kastrowanych, którym przez 5 dni przed wszczepieniem zarodka podawano w formie zastrzyków 300 mg progesteronu. Zastrzyki progesteronu stosowano codziennie aż do 100 dnia ciąży. Klacze takie donosiły ciężę, urodziły normalne źrebięta, które następnie odchowały i ponownie zostały zażrebione tą samą techniką.

W badaniach nad sterydogenezą 14-dniowych zarodków końskich wyizolowano dwa typy komórek: o mniej zagęszczonej cytoplazmie wydzielające progesteron i komórki o bardziej zagęszczonej cytoplazmie wydzielające estradiol. W innej pracy przedstawiono możliwości seksowania zarodków klaczy na podstawie określania chromosomu X.

Wiele prac dotyczyło zamieralności zarodków lub płodów u klaczy. Zastosowanie ultrasonografu w diagnostyce ciąży pozwala obecnie na wykrywanie każdego przypadku śmierci zarodka już od 12 dnia po zapłodnieniu. Wskaźnik wczesnej zamieralności zarodkowej do 40 dnia ciąży sięga około 10%, a najbardziej krytycznym okresem okazały się pierwsze 4 tygodnie ciąży. Wzorcowe badania nad mechanizmem zamieralności płodowej wykonane zostały przez dr W. R. Allena z Cambridge, który dokonał szeregu przeszczepów międzygatunkowych. Przeszczepił zarodki konia Przewalskiego (66 chromosomów) klaczom (64 chromosomy), zarodki klaczy oślicom (62 chromosomy) i mulicom (63 chromosomy) oraz zarodki zebry (46 chromosomów) klaczom i oślicom. Badania te wykazały jednoznacznie, że mechanizm poronień po 40 dniu ciąży związany jest z niedorozwojem lub reakcją immunologiczną ze strony kubków macicznych.

Szereg nowatorskich prac przedstawiono na sesji poświęconej opiece nad klaczami w okresie porodu i karmienia. Prof. M. Vandeplassche z Belgii zebrał w ciągu prawie 40 lat wyniki obserwacji 601 przypadków patologicznych porodów u klaczy. Okazało się, że 68% tych przypadków płody przodowały w pozycji główkowej, w 16% pośladowej i w 16% ułożone były w pozycji poprzecznej, podczas gdy w spontanicznych porodach proporcje te przedstawiały się odpowiednio 98%, 1%, 1%. Inne prace na tej sesji dotyczyły badań nad mechanizmem oddychania u nowo narodzonych źrebiąt, właściwości fizjologicznych

krwi i zależności hormonalnych pomiędzy kłaczą a płodem.

Sesja plakatowa okazała się bardzo dobrym sposobem bezpośrednich kontaktów z autorami. Na sesji tej przedstawiono prace, które tematycznie związane były z zagadnieniami prezentowanymi w czasie sesji referatowych. Z wyróżniających się plakatów należy wymienić te, które dotyczyły przechowywania zarodków w temp. 4° C przez 2 do 3 dni, sezonowości rozrodczej ogierów, oceny morfologicznej chromosomów oraz zakażeń *Salmonella abortus equi* i mykoplazmami. Prof. V. Osborne z Australii przedstawiła różne przypadki zaburzeń w układzie rozrodczym kłaczy, które są mylnie interpretowane przy badaniu wczesnej ciąży za pomocą ultrasonografu. Należą tu cysty maciczne, zatoki limfatyczne, guzy nowotworowe, zbite masy nabłonkowe, krwiaki i inne. Na sesji tej prezentowano także pracę na temat rozwoju koników polskich urodzonych po przeszczepieniu zarodków kłaczom typu zimnokrwistego. Badania te wykazały, że środowisko maciczne i okres bezpośrednio po urodzeniu wywierają największy wpływ na rozwój kości długich źrebiąt, a tym samym na ostateczny wzrost konia. Kości długie kończyn koników polskich urodzonych po przeszczepieniu zarodków były dłuższe o 2 do 5 cm w porównaniu do źrebiąt kontrolnych.

W trakcie trwania sympozjum odbyło się również posiedzenie Międzynarodowego Komitetu Organizacji Sympozjów Rozrodu Koni, na którym zdecydowano, że kolejne V Sympozjum odbędzie się w 1990 roku we Francji. Nowym przewodniczącym Komitetu został wybrany dr D. Mitchell z Kanady.

Drugą ważną imprezą naukową, która odbyła się w Fort Collins na Uniwersytecie Kolorado, USA, w dniach 20—23 sierpnia było sympozjum poświęcone wyłącznie konserwacji nasienia ogierów. Organizatorem sympozjum był prof. R. P. Amann i prof. B. W. Pickett. Na konferencję zaproszono 35 specjalistów z 12 krajów. Wygłoszono ogółem 28 referatów na temat biologii plemników, oceny nasienia oraz krótko- i długotrwałej konserwacji nasienia ogierów.

Wobec rejestrowania w USA i Kanadzie źrebiąt prawie wszystkich ras (z wyjątkiem pełnej krwi angielskiej) urodzonych po inseminacji, a także ze względu na coraz większe zagrożenie szerzenia się chorób przenoszonych podczas naturalnego krycia i ryzyka uszkodzenia cennych ogierów, wzrosła znacznie liczba unasienianych kłaczy. Zabiegi unasieniania prowadzone są na miejscu w stadninach nasieniem nie rozrzedzonym lub też nasieniem rozrzedzonym i transportowanym, a także na mniejszą skalę nasieniem przechowywanym w ciekłym azocie.

Śpośród powszechnie używanych w USA rozrzedzalników do przechowywania nasienia ogierów przez 2—3 dni należy wymienić rozrzedzalnik wg Kenney, w skład którego wchodzi: glukoza 40 g, odtłuszczone sproszkowane mleko 24 g, penicylina 1 500 000 j. m., streptomycyna 1,5 g, 1000 ml wody destylowanej. Dr D. H. Douglas Hamilton z USA stosując ten rozrzedzalnik i specjalny pojemnik „Equitainer” przystosowany do transportu w temperaturze lodu przez 2—3 dni, uzyskał na 107 unasienionych kłaczy 59% zażrebień w jednym cyklu i 83% żrebnosci końcowej.

W Holandii nasienie w stanie płynnym wysyłane jest do punktów inseminacyjnych w formie przesyłek pocztowych.

Dr E. Palmer z Francji ustalił, że optymalna liczba plemników w dawce inseminacyjnej o objętości 20 ml wynosi  $200 \times 10^6$ . Dr M. Arns z Teksasu przedstawił wyniki badań rozrzedzalników zawierających różne cukry. Okazało się, że najlepsze są: sacharoza, rafinoza i laktoza.

Interesujące wyniki badań przedstawił również prof. Wen-Yi z Chin. Sztuczne unasienianie kłaczy nasieniem płynnym prowadzone jest w Chinach na skalę masową od 40 lat. Tylko w jednej prowincji północnych Chin, gdzie populacja koni wynosi 4 mln, unasieniania się w ciągu roku około 500 000 kłaczy. Wyniki zażrebień wynoszą 40—55% w jednym cyklu, a wynik końcowy około 70—80% zażrebień. Natomiast sztuczne unasienianie nasieniem mrożonym rozpoczęto w Chinach w 1976 r. W tej części Chin unasieniono 2199 kłaczy w 1979 r. i 31 832 kłaczki w 1985 r. Uzyskuje się 43,3% zażrebień w pojedynczym cyklu i wynik końcowy 65—75% zażrebień. W stacjach unasieniania zebrane są najlepsze ogiery, od których gromadzi się nasienie w ciągu całego roku, uzyskując często do 3000 dawek inseminacyjnych od jednego ogiera.

W większości prezentowanych na sympozjum prac przeznaczonych do badań nasienie stosowane było w formie zamrożonej, w słomkach o objętości 0,5 ml lub 4 ml. Natomiast Nagase z Japonii, twórca kulkowej metody zamrażania nasienia, który w 1966 r. uzyskał pierwsze źlebięta urodzone w wyniku inseminacji mrożonym nasieniem, przedstawił wyniki użycia sorbitolu w kolejnych badaniach nad metodą mrożenia nasienia w kulkach.

W porównaniu z tymi pracami na podkreślenie zasługują wyniki przedstawione przez dr. Z. Müllera z Czechosłowacji, który w oparciu m.in. o instrukcję pobierania nasienia ogierów opracowaną w Polsce w 1979 r., zorganizował stację unasieniania kłaczy koło Pardubic, uzyskując w warunkach terenowych 56% zażrebień i 48% wyżrebień. Zabiegi unasieniania kłaczy prowadzą w Czecho-

słowacji przeszkoleni inseminatorzy, którzy w ciągu ostatnich 5 lat unasienili nasieniem mrożonym 958 klaczy.

Na zakończenie sympozjum pokazano uczestnikom Ośrodek Badań Rozrodu Zwierząt w Fort Collins. Ośrodek ten jest jednym z największych w Ameryce Północnej. Zlokalizowane są tu nowoczesne laboratoria i aparatura, a także około 400 koni przeznaczonych wyłącznie do badań nad przeszczepianiem zarodków i unasienianiem. W ośrodku tym zakupiono 13 wybitnych klaczy, stale używanych w celach sportowych oraz 4 wyselekcjonowane i sprawdzone ogiery. Klacze te wykorzystuje się jako dawczynie zarodków. Kryte są w kolejnych cyklach przez dobrane ogiery. Uzyskane tą drogą zarodki przeszczepiane są klaczom o mniejszej wartości hodowlanej. W ciągu niecałych 2 lat uzyskano od nich 104 źrebięta.

Dr L. S. Squaries wraz z dr. A. O. McKinnon zademonstrowali technikę przeszczepiania zarodków u klaczy, a także nową metodę przyżyciowego pozyskiwania oocytów od klaczy.

W ostatnim dniu sympozjum uczestnicy zwiedzili prywatną stadninę koni farmera P. Smitha, gdzie pokazano kilka wybitnych klaczy sportowych używanych wyłącznie jako

dawczynie zarodków. Rewelacją tego pokazu była demonstracja dwóch par źrebiąt trojaczek urodzonych jako wynik przeszczepiania zarodków przez 6 różnych klaczy biorczyń. W stadninie P. Smitha hodowane są konie sportowe uzyskiwane wyłącznie w wyniku inseminacji nasieniem mrożonym odpowiednio dobranych ogierów oraz stosowania techniki przeszczepiania zarodków. Dlatego też w stadninie tej nie ma ogierów. Ich miejsce zajmują kontenery z zamrożonym nasieniem oraz klacze biorczyńskie zarodków.

Reasumując należy podkreślić, że w zakresie badań nad rozrodem koni nastąpił w ostatnich latach dalszy ogromny postęp. Wiąże się to nie tylko z postępem nauki, ale także ze wzrastającym zainteresowaniem hodowlą koni. W konfrontacji wyników uzyskiwanych w Polsce, ze światowymi osiągnięciami w dziedzinie rozrodu koni, wydaje się konieczne dalsze podnoszenie poziomu badań prowadzonych w Polsce. Aby nasz kraj mógł odgrywać większą rolę w dziedzinie hodowli i eksportu koni konieczne jest szybkie wprowadzenie do praktyki nowoczesnych i uznanych już na świecie metod biotechniki rozrodu koni.

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

EDWARD WIERZCHOŚ, W. R. BONE\*, R. A. CARMICHAEL\*

## Amerykańskie Stowarzyszenie Przenoszenia Zarodków

Instytut Zootechniki, 32-083 Balice/Kraków  
\* Maplehurst Ova Transplants Inc., Keota, Iowa 52248 USA

American Embryo Transfer Association (A.E.T.A.) powstało w roku 1981 w wyniku wyłączenia z Międzynarodowego Towarzystwa Przenoszenia Zarodków (International Embryo Transfer Society — I.T.E.S.) grupy amerykańskiej. Opracowano wówczas statut stowarzyszenia, który postanawiał: objąć opieką wszystkie zespoły zajmujące się przenoszeniem zarodków — łącząc je w federację; reprezentować jednolite stanowisko wszystkich stacji przenoszenia zarodków; popierać interesy członków towarzystwa; udzielać pomocy powstającym, jak i już pracującym stacjom; rozwijać działalność mającą na celu upowszechnianie metody na terenie USA; zachęcać osoby i zespoły pracujące w tym zakresie do stosowania metody w praktyce.

Do organizacji tej mogą należeć tylko stacje przenoszenia zarodków, które prowadzą działalność na terenie Stanów Zjednoczonych.

Władze Stowarzyszenia wybierane są spośród przedstawicieli stacji. Ustalono, że liczba głosów w wyborach przydzielana będzie poszczególnym stacjom corocznie w zależności od

ilości wykonanych zabiegów transplantacji (w roku 1985 1 głos przypadał na 250 zabiegów).

Prezydium Amerykańskiego Stowarzyszenia Przenoszenia Zarodków stanowią: prezydent, wiceprezydent, sekretarz oraz pięciu dyrektorów — przewodniczących odpowiednich komitetów, których działalność wynika z zadań i funkcji, jaką spełnia A.E.T.A.

W skład A.E.T.A. wchodzi następujące Komitety:

1. Komitet d/s współpracy z zrzeszeniami hodowców zwierząt gospodarskich. Zadaniem komitetu jest rejestracja zwierząt urodzonych po transplantacji oraz przekazywanie dokumentacji hodowlanej odpowiednim zrzeszeniom.
2. Komitet weryfikacji zawodowej. Stowarzyszenie wymaga, aby wszystkie zespoły zajmujące się przenoszeniem zarodków posiadały licencję A.E.T.A. Komitet przeprowadza egzaminy weryfikacyjne oraz zaznajamia członków stowarzyszenia z przepisami państwowymi regulującymi działalność stacji.