

występuje tylko niewielki odsetek bydła seropozytywnego (ok. 0,20%). Dowodzą one również, że część z seropozytywnych zwierząt pochodzi ze strefy profilaktycznych szczepień pierścieniowych wokół Zduńskiej Woli. Kontrola populacji, szczepionej corocznie przez okres 5 lat, potwierdza długotrwałe utrzymywanie się przeciwciał pryszczycowych w surowicy dorosłego bydła oraz cieląt narodzonych z seropozytywnych matek, wielokrotnie szczepionych (1, 3). Z kolei, uzyskane informacje poparte wynikami badań zwierząt importowanych, pozwalają stwierdzić, że znaczna liczba seropozytywnego bydła znajdującego się na terenie Polski pochodzi z krajów ościennych (dawne NRD, ZSRR i Czechosłowacja), w których do 1991 r. prowadzono systematyczne szczepienia przeciwpryszczycowe. Importowane w latach 1989-1991 bydło oraz ich potomstwo, stanowią główne źródło seropozytywnych zwierząt. Utrzymanie i poprawa korzystnej dla kraju sytuacji, wymaga szczegółowej kontroli importu w zakresie dokumentacji, a także prowa-

żenia badań serologicznych zwierząt; pozwoli to na wyeliminowanie osobników nie spełniających kryteriów.

Reasumując należy stwierdzić, że przedstawione dane stanowią istotny materiał poznawczy, w oparciu o który można ocenić status naszego kraju w zakresie obecności przeciwciał pryszczycowych w populacji wrażliwych zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Kęsy A., Niedbalski W., Fitzner A., Paprocka G.: Mat. Konf. Nauk. P. T. Mikrobiol., Puławy, 3-4.06.1994, s. 41.
2. Niedbalski W., Fitzner A., Paprocka G., Kęsy A.: Bull. vet. Inst. Puławy 38, 105, 1994.
3. Niedbalski W., Kęsy A., Fitzner A.: Bull. vet. Inst. Puławy, 1997 (w druku).
4. OIE Manual of Standards for diagnostic tests and vaccines. Paris, OIE 1992.
5. Paprocka G., Kęsy A., Niedbalski W., Fitzner A.: Biotechnologia 36, 131, 1997.
6. Report of the Meeting of FMD Serology, Tübingen (Germany), 22-23.01.1997.
7. Reed L. J., Muench H.: Am. J. Hyg. 27, 493, 1993.

Adres autora: dr Andrzej Kęsy, ul. Wodna 22/7, 98-220 Zduńska Wola

DOROTA ZIEBA, EDWARD WIERZCHOŚ

Czynność sterydogenna populacji ciałek żółtych plennej owcy olkuskiej

Katedra Hodowli Owiec i Kóz Wydziału Zootechnicznego AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Summary

The steroidogenic activity of the corpora lutea population of the prolific Olkusz sheep

The aim of the study was to investigate a possible heterogeneity in the corpora lutea population of the prolific Olkusz sheep. The studies were done on 22 corpora lutea isolated from the ovaries of 3 sheep slaughtered on the sixth day of the estrous cycle. Individual corpora lutea were weighed, homogenized in 1 ml of PBS, and the concentration of the steroid hormones progesterone, estradiol and androgens was determined three times by radioimmunologic method.

It was found that there exist statistically significant differences ($p < 0.01$) in the level of progesterone and estradiol secreted by individual corpora lutea recovered from the same animal, that varied also in terms of weight (Tab. 1). This is the first study shows that the existence of interovarial and individual heterogeneity between corpora lutea recovered from ewes of a normal estrous cycle.

Badań nad określeniem zróżnicowania struktur jajnika (heterogeniczność) jest niewiele i dotyczą one głównie pęcherzyków przedowulacyjnych świń. U

zwierząt tych stwierdzono m.in. duże różnice stężeń estradiolu w płynie pęcherzykowym oraz wysoką zmienność liczby komórek warstwy ziarnistej w pęcherzykach pochodzących z jednego jajnika (4, 6). Stadium dojrzałości pęcherzyków oraz różny czas ich owulacji oddziałują też na procesy dojrzewania oocytów oraz na występującą po pęcherzykach populację ciałek żółtych, co ma największy wpływ na wczesne stadia rozwoju embrionalnego zarodka (8, 13). Heterogeniczność powinna zatem być obserwowana w ciałkach żółtych, które rozwijają się bezpośrednio z pęcherzyków podlegających owulacji, co niestety u świń nie udało się jak dotychczas jednoznacznie wykazać (10, 11).

Badania nad ciałkami żółtymi świń zainspirowały Hunter i Southee (7) do sprawdzenia potencjalnej heterogeniczności ciałek żółtych pozyskanych od owiec będących w *anoestrus*, które poddano stymulacji PMSG i FSH. Autorzy ci wykazali, iż poszczególne ciałka żółte różniły się pomiędzy sobą zarówno pod względem masy jak i sekrecji progesteronu w warunkach *in vitro*.

Celem badań było ustalenie, czy występujące w cyklu naturalnym owiec olkuskich liczne ciałka żółte

są jednorodnie czy też stanowią populację zróżnicowaną – heterogeniczną. Fakt ten bowiem może mieć wpływ na wczesne stadia rozwoju embrionalnego oraz stanowić jeden z czynników wczesnej zamieralności zarodków. Wyjaśnienie tego zagadnienia jest szczególnie istotne w przypadku owiec plennych takich jak owca olkuska, u której zazwyczaj obserwuje się, iż więcej pęcherzyków podlega owulacji niż rodzi się w miotach jagniąt.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na owcach długowiełnych odmiany olkuskiej będących w wieku 3-6 lat, o masie ciała od 45 do 55 kg, w sezonie ich aktywności płciowej. W roku poprzedzającym doświadczenie, w celu wyselekcjonowania owiec plennych (potencjalnych nosicielek genu wysokiej plenności) przeprowadzono w odstępach 16-dniowych, podczas trwania sezonu rozrodczego owiec rasy olkuskiej tj. w okresie od sierpnia do lutego, laparoskopowe obserwacje jajników (9). Na podstawie przeprowadzonych badań, ze stada wybrano owce maciorki przejawiające w naturalnym cyklu rujowym regularne owulacje na poziomie równym lub większym od 3. Celem dokładnego ustalenia dnia cyklu rujowego, owce maciorki będące w ruji wyszukiwano ze stada przy pomocy tryka-próbnika; czynności te przeprowadzono dwa razy dziennie, w odstępach 12-godzinnych. Bezpośrednio po uboju zwierząt, pobrane jajniki umieszczano w zimnym (4°C), zbuforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) z dodatkiem podwójnej dawki antybiotyków (240 i.u./ml penicyliny, 0,2 µl/ml streptomycyny). Za materiał do badań posłużyły 22 ciała żółte wyizolowane z jajników 3 owiec będących w 6 dniu cyklu rujowego (ruja – dzień 0). Pozyskane z jajników owiec ciała żółte oddzielano nożyczkami od pozostałej części jajnika i zamrażano w temp. -20°C w celu późniejszego oznaczania poziomu hormonów sterydowych. Przed przystąpieniem do badań ciała żółte rozmrażano. Następnie każde osobno ważono, homogenizowano w 1 ml PBS. W otrzymanych w ten sposób homogenatach trzykrotnie radioimmunologicznie oznaczano poziom hormonów sterydowych (RIA). Progesteron oznaczano wg metody Abraham i wsp. (1), estradiol wg metody Hotchkiss i wsp. (5) oraz androgeny oznaczano wg metody Dufau i wsp. (2). Zawartość hormonów sterydowych w homogenatach uzyskanych z ciałek żółtych poddano jednoczynnikowej analizie wariancji testem F. Obliczono średnie i odchylenia standardowe. Dla stwierdzenia istotności różnic pomiędzy średnimi wartościami hormonów uwalnianych w poszczególnych ciałkach żółtych zastosowano wielokrotny test rozstępu Duncana, przyjmując dwa poziomy istotności $p \leq 0,05$ i $0,01$.

Wyniki i omówienie

Heterogeniczność wewnątrzjajnikowa (tab. 1). U wszystkich badanych owiec obserwowano statystycznie istotne różnice ($p < 0,01$) w poziomie wydzielanego progesteronu przez poszczególne ciała żółte

pochodzące z tego samego jajnika. W kilku przypadkach zanotowano kilkakrotnie wyższy poziom sterydu pomiędzy dwoma ciałkami żółtymi. Zarówno na lewym jak i na prawym jajniku badanych trzech owiec zaobserwowano statystycznie istotne różnice ($p < 0,01$) w poziomie estradiolu wydzielanego przez ciała żółte w obrębie tego samego jajnika. Ciała żółte charakteryzujące się wysokim poziomem progesteronu wydzyalały równocześnie duże ilości estradiolu. Z wyjątkiem ciałek żółtych występujących na jajniku prawym owcy nr 3, ilość wydzielanych androgenów przez pozostałe, poszczególne ciała żółte w obrębie jajników była statystycznie istotna ($p < 0,01$).

Heterogeniczność międzyjajnikowa (tab. 2). Obserwowano statystycznie istotne różnice ($p < 0,01$) w poziomie wydzielanego progesteronu pomiędzy jajnikami lewym i prawym owcy nr 2 i 3 jak i estradiolu u owcy nr 3. Pewne różnice, ale statystycznie nieistotne, pomiędzy jajnikami stwierdzono także w przypadku sekrecji androgenów. Niskiemu poziomowi estradiolu towarzyszył wysoki poziom androgenów i odwrotnie – wysokiemu poziomowi estradiolu towarzyszył niski poziom androgenów.

Heterogeniczność międzyosobnicza (tab. 3). Po zsumowaniu ilości wydzielanych sterydów przez poszczególne ciała żółte lewego i prawego jajnika tej samej owcy, występowały statystycznie istotne różnice ($p < 0,01$) w poziomie progesteronu i estradiolu pomiędzy wszystkimi owcami. Brak było natomiast różnic w poziomie androgenów.

Występowanie podczas cyklu rujowego na jajnikach owiec plennych nawet do kilkunastu pęcherzyków, w miejscu których po owulacji tworzą się ciała żółte, jest zjawiskiem wyjątkowym i wciąż nie do końca poznany. Dlatego też brak jest w piśmiennictwie danych nt. heterogeniczności struktur jajnika owiec plennych. O wiele łatwiejszym modelem w tego typu badaniach pozostają nadal jajniki świń, a prowadzone od początku lat osiemdziesiątych doświadczenia wykazały występowanie dość dużego zróżnicowania populacji zarówno pęcherzyków przedowulacyjnych jak i ciałek żółtych u tego gatunku (4, 6, 8).

Hunter i Wiesak (8), badając przedowulacyjne pęcherzyki jajnikowe świń pomiędzy 16 a 20 dniem cyklu rujowego, zaobserwowały, iż w obrębie tego samego jajnika pęcherzyki nie tylko różniły się pomiędzy sobą średnicą (3,9-8,8 mm), ale pęcherzyki o zbliżonych rozmiarach wykazywały znaczne różnice w zawartości hormonów sterydowych w płynie pęcherzykowym. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji autorki stwierdziły, że pęcherzyki, które „wybrane” zostały do owulacji, nie znajdują się w tym samym stadium dojrzałości podczas procesów rekrutacji i selekcji. Przypuszczalnie duże, dojrzałe, wysoko estrogeniczne pęcherzyki wyzwalają falę LH, która następuje 18 dnia cyklu tj. w czasie gdy

Tab. 1. Uwalnianie hormonów sterydowych w poszczególnych ciałkach żółtych badanych owiec

Oznaczone parametry	Nr owcy	Jajnik								
		lewy				prawy				
		nr ciała żółtego								
		1	2	3	4	5	1	2	3	4
Masa c. żółtego (mg)	1	84	97	107	–	–	114	65	91	164
Progesteron* (pg/mg tk CL)		1487	2563	3650	–	–	2846	2500	1057	1470
Estradiol* (pg/mg tk CL)		7,50	2,30	9,39	–	–	6,92	57,73	2,30	51,51
Androgeny* (pg/mg tk CL)		2,01	0,47	1,51	–	–	0,63	1,45	0,68	0,87
		0,86	0,03	0,03	–	–	0,02	0,08	0,04	0,02
		3,80	1,18	4,85	–	–	1,64	2,10	1,90	0,72
		0,11	0,04	1,25	–	–	0,03	0,11	0,02	0,02
Masa c. żółtego (mg)	2	130	168	172	175	–	165	172	–	–
Progesteron* (pg/mg tk CL)		3256	4105	1100	6162	–	7800	6429	–	–
Estradiol* (pg/mg tk CL)		12,70	5,77	46,18	33,48	–	15,40	8,08	–	–
		3,54	1,16	1,21	2,76	–	1,70	3,40	–	–
Androgeny* (pg/mg tk CL)		0,01	0,03	0,10	0,05	–	0,23	0,57	–	–
		1,12	0,88	1,03	0,97	–	2,25	3,40	–	–
		0,02	0,01	0,11	0,03	–	0,02	0,34	–	–
Masa c. żółtego (mg)	3	180	200	220	240	290	143	155	168	170
Progesteron* (pg/mg tk CL)		4380	5125	7199	2230	4400	3100	2780	4100	3920
Estradiol* (pg/mg tk CL)		5,77	2,24	2,30	12,58	4,61	13,10	32,09	23,09	4,64
		1,22	0,97	1,78	1,23	0,97	3,11	2,63	0,82	2,15
Androgeny* (pg/mg tk CL)		0,09	0,06	0,03	0,05	0,01	0,03	0,02	0,08	0,02
		1,03	1,24	1,25	0,83	1,78	0,78	0,68	1,90	0,96
		0,06	0,04	0,23	0,05	0,03	0,08	0,01	0,08	0,02

Objaśnienia: * podano wartości średnie i odchylenia standardowe; mg – miligramy, pg – pikogramy, tk – tkanka, CL – ciało żółte.

selekcja pęcherzyków średnich i małych jest jeszcze kontynuowana (3). Stąd okres pomiędzy końcową selekcją pęcherzyków nie w pełni jeszcze dojrzałych a zmianami wywołanymi falą LH, obejmującymi m.in. zahamowanie mitozy w komórkach ziarnistych, jest bardzo krótki. Sugeruje to z kolei, iż w czasie samej owulacji, która następuje 36-40 godz. po fali LH pęcherzyki jajnikowe nie mogą i nie znajdują się na tym samym etapie rozwoju (8). Skoro potwierdzone zostało występowanie różnic w stadium dojrzałości pęcherzyków przedowulacyjnych, istotne stało się określenie, czy zjawisko to znajduje odbicie w strukturach ciałek żółtych tworzących się bezpośrednio z pęcherzyków. Niestety, prac dotyczących heterogeniczności ciałek żółtych, nawet u

świń, jest niewiele, ponadto autorzy dochodzą w nich do przeciwnych czasem wniosków. Wiesak i wsp. (13) wykazali występowanie zróżnicowania wśród populacji ciałek żółtych świń pod względem masy (8). Pozyskane w 12 dniu fazy lutealnej ciałka żółte różniły się tą cechą między sobą nawet i dwukrotnie. Podobne obserwacje na jajnikach tego samego gatunku zwierząt poczyniła Skałka (12), przy czym badania obejmowały okres całej fazy lutealnej.

W badaniach własnych obserwowano heterogeniczność ciałek żółtych owiec pod względem masy. Masa poszczególnych ciałek żółtych, które pozyskano szóstego dnia fazy lutealnej różniła się dwukrotnie pomiędzy osobnikami (tab. 1). Ponadto, nie stwierdzono, by sekrecja progesteronu uzależniona była

Tab. 2. Różnice w poziomie hormonów sterydowych pomiędzy jajnikami badanych owiec

Oznaczone parametry	Jajnik					
	lewy			prawy		
	nr owcy					
	1	2	3	1	2	3
Liczba ciałek żółtych	4	4	5	3	2	4
Progesteron* (pg/mg tk CL)	2474,25	3656,75	4146,0	1742,33	7114,50	2695,0
	826	890	1028	618	716	1115
Estradiol* (pg/mg tk CL)	1,41	2,41	1,52	0,94	2,75	2,42
	0,53	0,67	0,70	0,42	0,80	1,18
Androgeny* (pg/mg tk CL)	1,90	1,50	1,64	1,68	1,65	1,36
	1,22	0,35	0,88	0,60	0,38	0,40

Objaśnienia: jak w tab. 1.

Tab. 3. Różnice w poziomie hormonów sterydowych pomiędzy poszczególnymi owcami

Oznaczone parametry	Jajnik lewy + prawy		
	nr owcy		
	1	2	3
Liczba ciałek żółtych	7	6	9
Progesteron* (pg/mg tk CL)	4216,45	10 771,25	6839,10
	819	1199	1290
Estradiol* (pg/mg tk CL)	2,36	5,16	3,95
	0,53	0,93	0,98
Androgeny* (pg/mg tk CL)	3,58	3,15	3,0
	0,89	0,73	0,92

Objaśnienia: jak w tab. 1.

od masy ciała żółtego. Zaobserwowano także występowanie wysokich, statystycznie istotnych różnic ($p < 0,01$) pomiędzy poszczególnymi ciałkami żółtymi występującymi na jednym jajniku w poziomie wydzielania: progesteronu, estradiolu i androgenów (tab. 1). Podobne wyniki otrzymali Rao i Edgerton (11) oraz Skalka (12), z tym, że Rao i Edgerton określili w ciałkach żółtych świń poziom progesteronu, wiązania gonadotropin i aktywność trzech enzymów zaangażowanych w proces sterydogenezy, Skalka zaś badała wydzielanie hormonów sterydowych.

Wartym podkreślenia jest fakt, że przeprowadzone badania własne, porównujące poszczególne ciałka żółte pod względem masy oraz sekrecji hormonów

sterydowych po raz pierwszy wykazały występowanie u owiec heterogeniczności międzyjajnikowej jak i międzyosobniczej (tab. 2 i 3), co do tej pory obserwowano tylko u świń (10, 11). Według Rao i Edgerton (11) różnice pomiędzy ciałkami żółtymi rozwijającymi się na jednym jajniku odwzorowują różnice występujące pomiędzy poszczególnymi pęcherzykami przedowulacyjnymi, z których powstały. Przyczyn heterogeniczności poszczególnych ciałek żółtych pochodzących z jednego jajnika można zatem upatrywać w zróżnicowanych stadiach rozwojowych luteinizujących pęcherzyków. Natomiast różnice pomiędzy samymi jajnikami wynikają prawdopodobnie, jak sugerują inni autorzy (11) z odmiennego unaczynienia lewego i prawego jajnika. Pełne wyjaśnienie tego zjawiska wymaga jednak dalszych badań.

Piśmiennictwo

1. Abraham G. E., Swerdloff R., Tuchlinsky D., Odell W. D.: J. Clin. Endocr. Metab. 32, 619, 1971.
2. Dufau M. L., Catt C. L., Tsurukara T., Ryan D.: Clin. Chim. Acta 37, 109, 1972.
3. Edwards S., Foxcroft G. R.: J. Reprod. Fert. 67, 173, 1983.
4. Grant S. A., Hunter M. G., Foxcroft G. R.: J. Reprod. Fert. 86, 171, 1989.
5. Hotchkiss J., Atkinson L. E., Knobil E.: Endocrinology 89, 177, 1971.
6. Hunter M. G., Grant S. A., Foxcroft G. R.: J. Reprod. Fert. 86, 165, 1989.
7. Hunter M. G., Southee J. A.: J. Endocr. 121, 459, 1989.
8. Hunter M. G., Wiesak T.: J. Reprod. Fert. Suppl. 40, 163, 1990.
9. Murawski M., Wierchoś E., Murawska D.: Proc. Eur. Conf. Embryo Tech. & Genet. Engin. in Cattle & Sheep, Kraków 1994, 242.
10. Ottobre J. S., Eyster K. M., Stouffer R. L.: Biol. Reprod. 30, 271, 1984.
11. Rao Ch. V., Edgerton L. A.: J. Reprod. Fert. 70, 61, 1984.
12. Skalka M.: Heterogeniczność ciałek żółtych świń. Wydział BiNoZ UJ, Kraków 1994, Praca magist.
13. Wiesak T., Hunter M., Foxcroft G. R.: J. Reprod. Fert. 89, 633, 1990.

Adres autora: mgr Dorota Zięba, ul. Żwirki i Wigury 1/2, 32-510 Jaworzno