

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

ZBIGNIEW BERNACKI, ROMAN HOPPE

Próba biometrycznego określenia produkcji feromonów u świń

Z Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Warszawie

Szczególnie predysponowanymi narządami do lokalizacji zapachów moczowego i płciowego u knurów i wnetrów są gruczoły ślinowe, w których natężenie zapachów jest znacznie silniejsze w porównaniu z tkanką tłuszczową (1, 7, 12, 15, 18, 19). Patterson (12) stwierdził, że u knurów najintensywniejszy zapach zlokalizowany jest w gruczołach ślinowych podżuchwowych (*glandulae submandibulares*), a zapach wydobywający się podczas gotowania ślinianek przypomina zapach piżma. Zapach ten pojawia się w gruczołach w przypadku występowania zapachu moczowego i płciowego w tkankach tłuszczowej i mięśniowej. U loch i kastratów dominuje w gruczołach swoisty zapach zbliżony do woni gotowanych ziemniaków.

Przyczyną występowania zapachów moczowego i płciowego w mięsie knurów i wnetrów są związki zapachowe (feromony, ektohormony). U knurów stwierdzono istnienie trzech substancji zapachowych, które odgrywają istotną rolę w pobudzaniu płciowym samic (3, 4, 8, 10, 12, 13, 14, 16, 17, 20, 21) a dwa z nich są przyczyną specyficznych zapachów mięsa. Biosynteza tych substancji następuje w jądrach (5, 6, 9), a wydalanie przez gruczoły ślinowe podżuchwowe (1, 12, 13, 15) oraz gruczoły błony śluzowej napletka. Przez gruczoły napletkowe wydalaną jest 5 α -androst-17-en-3-on (2, 3), którego obecności nie stwierdzono w mięsie knurów i wnetrów (12). W tkankach tłuszczowej i mięśniowej oraz gruczołach ślinowych podżuchwowych występuje 5 α -androst-16-en-3-on, który odpowiada za zapach moczowy (6, 8, 11, 13, 15) oraz 3 α -hydroksy-5 α -androst-16-ol, który jest przyczyną zapachu płciowego (piżma) (12, 13). Substancje te wydalone ze śliny przez gruczoły ślinowe podżuchwowe — gdzie następuje największa ich koncentracja — dostają się do przewodu pokarmowego i w trakcie procesów trawienia i przyswajania przedostają się do tkanek tłuszczowej i mięśniowej, powodując występowanie w nich zapachów moczowego i płciowego (12, 15). Mimo największej koncentracji związków zapachowych w gruczołach ślinowych podżuchwowych nie można wykluczyć bezpośredniego (z krwiobiegu) przenikania ich do tkanek tłuszczowej i mięśniowej. Stwierdzono, że u knurów istnieje zależność między po-

ziomem testosteronu w krwi a ilością wytwarzanych feromonów (3, 15).

Celem pracy było prześledzenie rodzajów i intensywności zapachów występujących w gruczołach ślinowych podżuchwowych, oraz określenie ciężaru i wymiaru gruczołów u wnetrów, wczesnych kastratów i loszek.

Materiał i metody

U 50 wnetrów oraz dla porównania u 50 wczesnych kastratów i samic ważono i mierzono wielkości gruczołów ślinowych podżuchwowych. Ciężary oznaczono z dokładnością do 1 g a wymiary z dokładnością do 1 mm. W celu wyznaczania obiektywnych ciężarów gruczołów ślinowych podżuchwowych wyznaczano stosunki ciężaru półtuszy do ciężaru gruczołów. Następnie porównano grupę wnetrów, u których w gruczołach ślinowych podżuchwowych stwierdzono występowanie zapachu piżma lub moczu (21 zwierząt) a grupą wnetrów, u których w gruczołach ślinowych występował zapach swoisty (29 zwierząt). W celu określenia znamienności różnic między średnimi wartościami wymienionych stosunków posłużono się testem „t” Studenta.

U wszystkich zwierząt przeprowadzono badania organoleptyczne gruczołów ślinowych podżuchwowych oraz tkanek tłuszczowej i mięśniowej. Rozdrobnione gruczoły ślinowe zalewano niewielką ilością wody (około 100 ml) i gotowano. Próbkę w postaci wycinków tkanek tłuszczowej i mięśniowej o rozmiarach 10×5×5 cm pobierano z okolicy mostka i pępka. Pobrane próbki poddawano próbie smażenia i gotowania w emaliowanym naczyniu pod przykryciem. Badano wędchowo po zagotowaniu wody (tzw. „pierwsza para”) oraz kilkakrotnie w trakcie gotowania w odstępach minutowych. Badania organoleptyczne przeprowadzano w 3—5 godzin i powtarzano w 24 godziny od momentu uboju. Badania przeprowadzały zawsze te same 3 osoby, których zdolności wyczuwania i rozpoznawania zapachów sprawdzano z werdyktami większych grup osób (5—10). Badania przeprowadzono tylko przy pełnej sprawności węchowej wyznaczonych 3 osób.

Występujące zapachy piżma w gruczołach ślinowych oraz płciowy w tkankach tłuszczowej i mięśniowej porównywano z zapachem preparatu Sex Odour Aerosol (SOA) produkcji „Intervet Nederland B. Y. Boxmeer”.

Badania przeprowadzono u zwierząt o ciężarze półtuszy 60—100 kg, co odpowiada ciężarowi ciała 85—143 kg. Zwierzęta pochodziły z terenów woj. toruńskiego i włocławskiego.

Wyniki

W zależności od rodzaju występującego zapachu w gruczołach ślinowych podżuchwowych w tab. 1 zestawiono wartości średnich

Tab. 1. Średnie wartości ciężaru i wymiaru gruczołów ślinowych podżuchwowych oraz stosunku ciężaru półtusz do ciężaru gruczołów w zestawieniu z rodzajami zapachu występującego w gruczołach ślinowych podżuchwowych

Rodzaj zapachu występującego w gruczołach ślinowych podżuchwowych	Średni stosunek ciężaru półtusz do ciężaru obu gruczołów ślinowych podżuchwowych	Średni ciężar obu gruczołów ślinowych podżuchwowych (g)	Biometria gruczołów ślinowych podżuchwowych (cm)		
			średnia długość	średnia szerokość	średnia grubość
Wnętrostwo ++	1315,48	61,31	7,1	4,3	1,5
7 przypadków	(1024,80 – 1454,40)	(55 – 82)	(6,2 – 8,5)	(3,4 – 5,2)	(1,3 – 1,7)
Wnętrostwo +	1928,14	45,61	6,1	4,0	1,4
14 przypadków	(1219,14 – 3035,35)	(28 – 70)	(5,2 – 6,8)	(3,4 – 4,9)	(1,1 – 1,9)
Wnętrostwo –	2141,89	36,62	6,0	3,6	1,2
29 przypadków	(1339,77 – 3550,00)	(20 – 51)	(4,6 – 7,1)	(2,8 – 4,2)	(1,0 – 1,7)
Wczesne kastraty i samice	2541,14	30,36	5,3	3,3	1,1
50 przypadków	(1666,80 – 3375,27)	(23 – 42)	(4,3 – 6,4)	(2,6 – 4,3)	(0,7 – 1,5)

Objaśnienia: ++ = zapach piżma; + = zapach moczowy; – = zapach swoisty.

ciężarów i wymiarów gruczołów oraz stosunki ciężaru półtusz do ciężaru gruczołów.

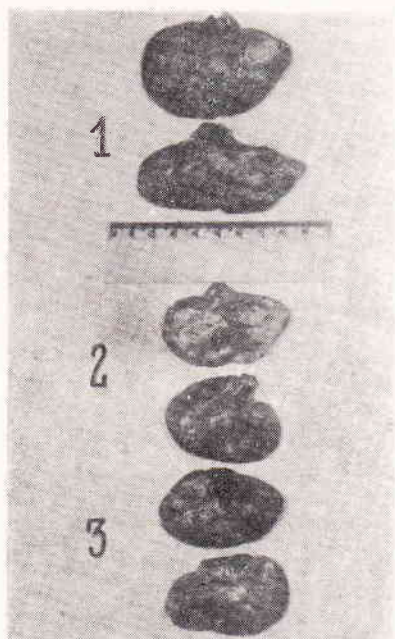
W gruczołach ślinowych podżuchwowych wnętrów zapach piżma występował w 7 przypadkach (14%), moczowy w 14 przypadkach (28%) a swoisty w 29 przypadkach (58%). We wszystkich gruczołach wczesnych kastratów i samic występował zapach swoisty (gotowanych ziemniaków).

Gruczoły, w których występował zapach piżma miały średni największy ciężar i najmniejszy stosunek ciężaru półtusz do ciężaru gruczołów. Stosunek ten świadczy o obiektywnie największym ciężarze gruczołów. Również średnie rozmiary gruczołów były największe. Gruczoły, w których występował zapach moczowy miały średni ciężar mniejszy o około 15 g, natomiast średnia wartość stosunku ciężaru półtusz do ciężaru gruczołów była większa o ponad 600. U wnętrów, u których gruczoły wykazywały zapach swoisty, średni ciężar gruczołów był najmniejszy, natomiast wartość

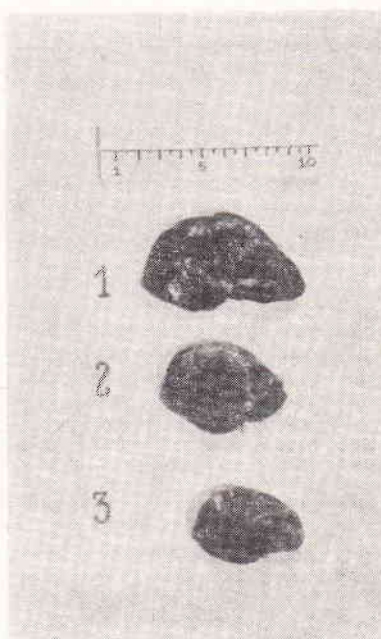
średniego stosunku ciężaru półtusz do ciężaru gruczołów była największa.

Występowaniu zapachu piżma w gruczołach ślinowych podżuchwowych towarzyszył zapach płciowy lub moczowy mięsa, natomiast zapachowi moczowemu w gruczołach towarzyszył zapach moczowy lub rzadziej swoisty mięsa.

Przeprowadzone badania organoleptyczne tkanek tłuszczowej i mięśniowej oraz gruczołów ślinowych podżuchwowych metodami pieczenia i gotowania nie wykazały różnicy w natężeniu występujących w mięsie wnętrów zapachów płciowego i moczowego po 3–5 i 24 godzinach od chwili uboju. Zapach określany jako płciowy był komponentem zapachu piżma i moczu, przy czym intensywność zapachu piżma znacznie utrudniała wyczuwanie zapachu moczowego. Przeprowadzone porównanie zapachu piżma (występującego w czystej postaci w gruczołach ślinowych podżuchwowych) z zapachem preparatu Sex Odour Aerosol (SOA) wykazało identyczność zapachów.



Ryc. 1. Gruczoły ślinowe podżuchwowe wnętra (1), wczesnego kastrata (2) i samicy (3). W gruczołach wnętra występował zapach moczowy



Ryc. 2. Różne wymiary gruczołów ślinowych podżuchwowych u wnętrów. W gruczołach występowały zapachy: 1 — piżma, 2 — moczowy, 3 — swoisty

U wczesnych kastratów i loszek średni ciężar gruczołów w porównaniu z średnim ciężarem gruczołów wnetrów był wyraźnie mniejszy, a w stosunku do gruczołów wykazujących zapach piżma przeszło dwukrotnie mniejszy. Również wyraźnie mniejsze były średnie wartości biometryczne gruczołów.

W grupie 21 wnetrów, których gruczoły wykazywały zapach piżma lub moczu, wartość stosunku ciężaru półtuszy do ciężaru gruczołów była znamienne niższa przy $p < 0,05$ w porównaniu z grupą 29 wnetrów, których gruczoły wykazywały zapach swoisty.

Omówienie wyników

Gruczoły ślinowe podżuchwowe knurów i wnetrów oprócz zasadniczej czynności wydzielniczej pełnią funkcję wydalania płciowych substancji zapachowych. Potwierdzili to Perry i wsp. (13), którzy po doświadczalnym usunięciu gruczołów stwierdzili zahamowanie wydalenia feromonów.

Występowaniu zapachów zarówno piżma, jak i moczu w gruczołach ślinowych podżuchwowych, z reguły towarzyszyło występowanie zapachów płciowego i moczowego w tkankach tłuszczowej i mięśniowej, co potwierdza spostrzeżenia Pattersona (12). W tkance tłuszczowej feromony są jedynie magazynowane i stężenie ich może tam osiągnąć wysoki poziom. Dla zniknięcia zapachu płciowego z tłuszczu knura po kastracji niezbędny jest okres nie krótszy od 6 tygodni. Ilościowe oznaczenie feromonów u wnetrów nie zostało jeszcze dotychczas dokonane, a zawartość feromonów w narządach i tkankach oceniona jest do tej pory w oparciu o intensywność zapachu.

Gruczoły ślinowe podżuchwowe 50 wczesnych kastratów i samic wykazywały zapach swoisty a ich ciężar i wymiary były wyraźnie mniejsze w porównaniu z ciężarem i wymiarami gruczołów u wnetrów. Średni ciężar gruczołów wczesnych kastratów i samic w porównaniu z średnim ciężarem gruczołów wnetrów, w których stwierdzono występowanie zapachu piżma, był zaś dwukrotnie mniejszy. Również w porównaniu z gruczołami wnetrów, w których występował zapach moczowy, średni ciężar gruczołów podżuchwowych samic i wczesnych kastratów był mniejszy o 1/3. Natomiast w porównaniu z gruczołami wnetrów, w których występował zapach swoisty, średni ciężar i wymiary gruczołów podżuchwowych wczesnych kastratów i samic były nieznacznie mniejsze (odpowiednio 36,62 g i 30,36 g). Przemawia to za zależnością rozwoju gruczołów od ilości wytwarzanych w organizmie feromonów, a w związku z tym od czynności androgennej jąder. Gruczoły ślinowe podżuchwowe u wnetrów osiągają większe ciężary i wymiary prawdopodobnie w związku z dodatkową ich czynnością polegającą na magazynowaniu i wydalaniu

feromonów. Ciężary i wymiary gruczołów ślinowych podżuchwowych są przypuszczalnie wprost proporcjonalne do ilości produkowanych feromonów. Istnieją więc prawdopodobnie możliwości biometrycznego określania produkcji związków zapachowych u świń. Wykorzystanie zwiększonego ciężaru i wymiarów gruczołów ślinowych podżuchwowych dla orzekania o zapachu mięsa z powodu trudności wypreparowania tych gruczołów nie ma jednak aspektu praktycznego.

Wnioski

1. W gruczołach ślinowych podżuchwowych wnetrów występują 3 rodzaje zapachów: piżma, moczowy i swoisty.
2. W zależności od rodzaju występującego zapachu ciężar i wymiary gruczołów podżuchwowych wykazują wyraźne różnice.
3. Ciężar gruczołów o zapachu piżma jest w przybliżeniu 2-krotnie, a gruczołów o zapachu moczowym o 1/3 większy w porównaniu z gruczołami wnetrów, wczesnych kastratów i samic, w których występuje zapach swoisty.
4. Koncentracja zapachu piżma i moczu w gruczołach ślinowych podżuchwowych związana jest z funkcją wydalania przez nie feromonów.

Piśmiennictwo

1. Claus R., Hoffman B., Karg H.: J. Anim. Sci. 6, 1293, 1971.
2. Dutt R. H., Simpson E. C., Christian J. C., Bornhorst C. E.: J. Anim. Sci. 18, 1557, 1959.
3. Ewy Z.: Kosmos, Seria A, 22, 235, 1973.
4. Ewy Z., Bielański A., Bieniek J.: Medycyna Wet. 31, 86, 1975.
5. Gower B. B., Ahmad N.: Biochem. J. 105, 41, 1970.
6. Hennig A.: Mineralstoffe Vitamine Ergotropika, VEB Deutschen Landwirtschaftsverlag, Berlin, 1972.
7. Janetschke P.: Mh. Vet.-Med. 18, 15 Zusatzheft, 1963.
8. Karg H.: Tierzüchter 24, 308, 1972.
9. Kačkov T., Gower D. B.: Biochim. biophys. Acta 164, 134, 1968.
10. Melrose D. R., Reed H. C. B., Patterson R. L. S.: Br. vet. J. 127, 497, 1971.
11. Patterson R. L. S.: J. Sci. Fd. Agric. 19, 31, 1968.
12. Patterson R. L. S.: J. Sci. Fd. Agric. 19, 434, 1968.
13. Perry G. C., Patterson R. L. S., Stinson G. C.: VII Int. Cong. Anim. Reprod. München 1, 396, 1972.
14. Reed H. C. B., Melrose D. R., Patterson R. L. S.: Br. vet. J. 130, 61, 1974.
15. Rhodes D. N., Patterson R. L. S.: J. Sci. Fd. Agric. 22, 320, 1971.
16. Schulman A.: Nord VetMed. 26, 410, 1974.
17. Signoret J. P.: Reprod. Fert. Suppl. 11, 105, 1970.
18. Smetana M.: Nas Chov 2, 49, 1962.
19. Vogel G.: Tierärztl. Umsch. 7, 49, 1952.
20. Willems C. M. T.: Tijdschr. Diergeneesk. 97, 235, 1972.
21. Willems C. M., Jong J. B.: VII Int. Cong. Anim. Reprod. München, 1, 1659, 1972.

Adres autora: dr Zbigniew Bernacki, ul. Fałata 25, 87-100 Toruń.

Бернацки З., Хоппэ Р. — Попытка биометрического определения продукции феромонов у свиней.

У 50 крипторхидов и 50 ранних кастратов определяли вес и величину слюнных субмандибулярных желез. Установили, что железы крипторхидов отличаются весом и величиной в зависимости от рода издаваемого запаха. Если в железах появлялся запах мускуса вес их был почти 2 раза, а при запахе мочи на 1/3 выше чем желез крипторхидов, ранних кастратов и самок проявляющих нормальный свойственный свиньям запах. Авторы полагают, что это явление зависит от количества скапливающихся в слюнных субмандибулярных железах феромонов.

Bernacki Z., Hoppe A. — A trial of biometric determination of pheromones production in pigs.

There have been determined the weight and size of the submandibular salivary glands in 50 cryptorchic and 50 early castrated boars. There were found some differences in the above parameters of the glands in relation to the kind of their own smell. The glands

with musky smell were about 2 times heavier and those with urinary smell about 1/3 times lighter than those of cryptorchic and early castrated boars and sows with „own smell”. These differences observed among the salivary mandibular glands were probably related to the content of stored and excreted pheromones.

ALICJA WILKOSZ

Analiza szczepów *Vibrio*

Z Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Warszawie

W 1955 r. Bryner i Frank podzielili napotykaną u bydła i owiec szczepu na chorobotwórcze *Vibrio fetus* (produkujące katalazę i nieprodukujące siarkowodoru) oraz niechorobotwórcze *Vibrio bubulus* (katalazo ujemne i H₂S dodatnie). Podział ten wkrótce stał się niewystarczający, gdyż już w 1956 r. Akkermans i Terpstra (1) donieśli o wyosobnieniu z poronionych płodów bydłych szczepów wytwarzających zarówno H₂S jak i katalazę. Florent (5) tę nową odmianę *Vibrio* nazwał mętwikiem sporadycznego ronienia lub *Vibrio fetus intestinalis* typ II. Od owiec *Vibrio* o podobnych właściwościach morfologicznych izolowali Eide i Helle (4). W Polsce Wilkosz i Książek (11, 12) izolowały takie szczepy *Vibrio* od owiec w stadzie, gdzie występowały masowe ronienia. Hoppe i wsp. (7) z układu rozrodczego bydła w Polsce izolowali *Vibrio fetus venerealis* cechujące się wytwarzaniem dużej ilości katalazy i niewytwarzających H₂S oraz *Vibrio bubulus*, dające dodatnią reakcję na H₂S a niewytwarzające katalazy. W 1962 r. (8) autorzy ci donieśli jednak o występowaniu w napletku buhajów, które nigdy nie kryły, nowej odmiany *Vibrio*, cechującej się zarówno wytwarzaniem katalazy jak i H₂S, oraz rosnącej w obecności 1% glicyny. *Vibrio* to uznali za niechorobotwórcze i nazwali typem III, gdyż wykazywał niskie miano aglutynacyjne z *V. fetus venerealis*.

Coraz częściej napotymano w diagnostyce wibriozy na szczepy, których właściwości morfologiczne i biochemiczne nie pozwalały na zakwalifikowanie ich do znanych grup (2, 10). W związku z powyższym postanowiono przebadąć właściwości biochemiczne i serologiczne szczepów *Vibrio* występujących w układzie rozrodczym bydła i owiec w Polsce jak również i w poronionych płodach od tych zwierząt.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 113 szczepów *Vibrio*, w tym 110 szczepów wyizolowanych z układu rozrodczego bydła i owiec na terenie Polski oraz 3 szczepy kontrolne: 1. *Vibrio fetus venerealis* (St₆ — old Terpstra strain, uzyskany z Danii), 2. *Vibrio fetus intestinalis* — pochodzący z RFN, 3. *Vibrio* typ III „Wiech” — opisany przez Hoppego i wsp. (8). Ze 110 szczepów 32 zostały nadesłane przez Zakłady Higieny Weterynaryjnej do określenia.

Materiał z napletka od buhajów i tryków pobierano przy użyciu metody stosowanej do pobierania wypłuczyń od buhajów (5, 7, 8). Śluz pochowowy od krów pobierano pipetą szklaną (7, 8) oraz od owiec przy użyciu łyżeczki pochwowej (12). Z poronionych płodów materiał izolowano wg Hoppego (8) i Wilkosz (12). Materiał wysiewano na agar z 5% krwią baranią z dodatkiem cysteiny i zieleni brylantowej oraz na podłoże Bartletta. Badanie bakteriologiczne przeprowadzano w oparciu o metody podane przez Hoppego i wsp. (7, 8). Do oceny biochemicznej szczepów stosowano próbę na katalazę Brynera i Franka (2), próbę na H₂S (pasek bibuły nasączony octanem ołowiu, umieszczony między korkiem a brzegiem próbówki z wysianą hodowlą, różnicową hodowlę na bulionie z dodatkiem 12 glicyny wg Lecce (9) oraz próbę z 3,5% NaCl (6). Podłoża z wysianym materiałem inkubowano w warunkach mikroaerofilnych (92% N, 3% CO₂, 5% O₂) wg Hoppego (7, 8).

Antygeny do próby aglutynacji próbówkowej (pełny przecinkowiec pochodzący z logarytmicznej fazy wzrostu) wykonano ze wszystkich 113 szczepów. 24-godzinna żywa hodowla *Vibrio* z pożywki stałej zmywano roztworem fizjologicznym, dwukrotnie wirowano przy 5000 obr./min., przemywano 0,85% NaCl i dodawano 0,2 ml formaldehydu na 100 ml antygeny. Używano antygeny o gęstości optycznej 2 wg skali McFarlanda.

Surowice diagnostyczne otrzymywano, szczepiąc dożylnie króliki spluczną *Vibrio* z hodowli stałej, wzrastającymi dawkami od 0,2 do 1 ml. w odstępach 4 dniowych. Króliki skrwawiano przy wzroście miana aglutynacyjnego od 5120 do 10240. Uzyskano surowice: anty *Vibrio fetus venerealis*, anty *Vibrio fetus ovis*, anty *Vibrio* typ III, anty *Vibrio bubulus* typ owczy i bydłowy. Uzyskano również surowiec przeciw kontrolnym szczepom (anty *Vibrio fetus venerealis* — St₆, anty *Vibrio fetus intestinalis* — RFN i anty *Vibrio* typ III — Wiech). Odczyn aglutynacji próbówkowej badanych szczepów przeprowadzano wg Mitscherlicha (10).

Wyniki

Od bydła wyizolowano 60 szczepów *Vibrio*, w tym 14 szczepów patogennych z napletka buhajów i 6 od krów ze śluzu pochwowego, a 6 z poronionych płodów; pozostałe 34 szczepy bydłowe uznane za niepatogenne *Vibrio bubulus*. Od owiec wyizolowano 21 szczepów patogennych, w tym 12 z poronionych płodów i 9 szczepów ze śluzu pochwowego. Od tryków wyizolowano 10 szczepów niepatogenne *Vibrio bubulus* i 20 takich szczepów ze śluzu pochwowego owiec. Wyizolowane szczepy podzielono na 10 typów. Podstawą podziału była obecność w szczepach katalazy, wytwarzanie siarkowo-