

C. THIBAUT

Postępy w biologii gamet. II. Biologia gamety żeńskiej *)

Z Uniwersytetu w Paryżu VI i Państwowego Instytutu Badań Rolniczych w Jouy-en-Josas (Francja)

Owulacja oocytu, zdolnego do zapłodnienia, stanowi rezultat długiego procesu fizjologicznego, obejmującego trzy główne etapy:

— tworzenie się oocytu, którego zasadniczą cechą jest profaza mejotyczna, występująca zwykle już w czasie rozwoju zarodkowego;

— wzrost oocytu obejmujący także witelogenezę i transkrypcję informacji genetycznej, zgodnie z którą przebiega początek embriogenezy;

— przedowulacyjne dojrzewanie oocytu obejmujące wznowienie procesu mejozy oraz nabycie przez cytoplazmę zdolności do rozpoczęcia pierwszych embrionalnych cykli komórkowych.

Tworzenie się oocytów

U wielu ssaków (krowa, owca, człowiek) oocyty tworzą się już na początku rozwoju embrionalnego, a nigdy nie później niż w ciągu pierwszych dni po urodzeniu.

Jeszcze przed migracją do listew płciowych, komórki prapłciowe są większe niż większość komórek somatycznych. Jednak najbardziej charakterystyczną cechą żeńskich komórek płciowych jest bardzo wczesne pojawienie się profazy mejotycznej. Rozpoczęcie mejozy zachodzi pod kontrolą podwójnego mechanizmu. Jako induktory mejozy działają komórki somatyczne sznurów płciowych (*rete ovarii*) wnikaające wcześniej do jajników i otaczające oogonie. Dowiódł tego bezspornie Byskov (2, 3), który przeszczepiał samicom jajniki (lub ich fragmenty) znajdujące się w różnych stadiach różnicowania się. Jeżeli były w nich już obecne komórki sznurów płciowych, to zachodziła mejoza i tworzenie się pęcherzyków jajnikowych; natomiast we fragmentach jajnika pozbawionych komórek sznurów płciowych pęcherzyki nigdy się nie różnicowały a oogonie ulegały w końcu degeneracji.

Ponadto wydaje się, że dla wykształcenia kompetencji komórek sznurów płciowych potrzebny jest bodziec lokalny; w jajnikach zarodka owcy, umieszczonych w hodowli *in vitro* przed pojawieniem się profazy mejotycznej (< 50-dniowych), oogonie dzielą się w dalszym ciągu, ale nie rozpoczynają procesu mejozy. Natomiast profaza mejotyczna pojawia się wtedy, jeżeli takie jajniki przeszczepi się na normalne miejsce do wykastrowanego zarodka żeńskiego owcy, będącego w odpowiednim wieku (< 50-dniowego) (17). W wytworzeniu

takiego lokalnego bodźca nie bierze udziału ani przysadka zarodka ani matki, gdyż hypofizektomia zarodka nie zapobiega rozpoczęciu procesu mejozy, ani też — na odwrót — obecność gonadotropin owcy w środowisku hodowlanym nie stymuluje pojawienia się mejozy w jajniku 47-dniowego zarodka (17, 18).

Porównywalne wyniki otrzymane w doświadczeniach z jajnikiem chomika (4) przemawiają za tym, iż takie same mechanizmy działają u wszystkich ssaków.

Mimo iż komórki somatyczne grają główną rolę w oogenezie, to jednak pęcherzyki nie mogą się rozwijać w braku oocytów. Wykazano to sterylizując jajniki zarodka przez podanie inhibitorów mitozy w krytycznym okresie namnażania się komórek płciowych (42). Dlatego też musimy traktować oocyt i otaczające go komórki jako fizjologiczną całość — pęcherzyk pierwotny. Liczba pęcherzyków pierwotnych, stanowiących cały zapas komórek rozrodczych młodej samicy, jest zdeterminowana genetycznie, ale nie koreluje bezpośrednio z płodnością samicy (13, 15, 40).

Wzrost i różnicowanie się oocytów

Skoro całkowita liczba pęcherzyków pierwotnych jest ustalona już we wczesnym okresie życia samicy, a pęcherzyki te muszą być do dyspozycji w ciągu całego życia płciowego, mechanizmy regulujące ustawicznie ograniczają liczbę tych pęcherzyków pierwotnych, które rozpoczynają wzrost i tym samym zubożają ich zapas. Bardzo mało wiemy na temat tej regulacji. Metoda znakowania dzielących się komórek folikularnych lub osłony przejrzystej (*zona pellucida*) oocytu, oszacowano, że u dorosłej myszy okres wzrostu — od pęcherzyka pierwotnego aż do owulacji — wynosi 19 dni (25) lub 35 dni (24). Na początku tego okresu wzrost oocytu i całego pęcherzyka są ze sobą skorelowane. Rozpoczęcie wzrostu pęcherzyka u samic hypofizektomizowanych zachodzi podobnie jak u normalnych i nie jest zależne od gonadotropin. FSH potrzebny jest tylko do podziałów komórek folikularnych w okresie poprzedzającym wytworzenie jamy pęcherzyka (*antrum*), do jej uformowania się, do sekrecji estrogenu i wykształcenia na komórkach folikularnych receptorów hormonu luteinizującego, LH (7, 29, 30).

Liczba oocytów i pęcherzyków, które rozpoczynają wzrost w ściśle określonym czasie, jest w pierwszym rzędzie kontrolowana przez mechanizmy wewnątrzjajnikowe. Peters i wsp. (26) wykazali, że płyn folikularny z rosnących

*) Referat plenarny, wygłoszony na VIII Międzynarodowym Kongresie Rozrodu i Sztucznego Unasielenia Zwierząt, Kraków 12—16.VII.1976 r.

pęcherzyków Graafa, zastrzyknięty niedojrzalym myszom, obniża liczbę pęcherzyków rozpoczynających wzrost. Jednakże u zwierząt hypofizektomizowanych nie występują pęcherzyki z wykształconą jamą, a mimo to procent pęcherzyków pierwotnych rozpoczynających wzrost nie wydaje się ulegać zmianie. Wskazuje to na obecność jeszcze innych systemów regulujących w jajniku.

Wprawdzie gonadotropiny nie są potrzebne do wzrostu pęcherzyków, jednak w braku FSH opisano nienormalności w osłonie przejrzystej (19); ponadto liczba rosnących pęcherzyków oraz pęcherzyków posiadających jamę, zwiększa się po iniekcji egzogenicznych gonadotropin, lub po naturalnym wzroście poziomu gonadotropin występującym w czasie cyklu płciowego. Z drugiej strony jednak jajniki hypofizektomizowanych szczurów i myszy zawierają wyższą liczbę pęcherzyków niż u samic normalnych. A więc gonadotropiny normują tempo różnicowania się pęcherzyków.

W czasie wzrostu oocytów wzrasta silnie zawartość RNA i mitochondrialnego DNA, na co wskazują dane biochemiczne i obrazy ultrastruktury. W okresie wzrostu synteza RNA jest w przybliżeniu proporcjonalna do średnicy jądra, która koreluje z wielkością oocytu. Kiedy zostaje osiągnięta wielkość maksymalna, włączanie znakowanych prekursorów RNA spada do niskiego poziomu (20, 21). Synteza RNA przebiega podobnie jak w pętłach chromosomów szczoteczkowych opisanych w oocytach płazów. W oocytach zarodka ludzkiego w stadium diploenu występują funkcjonalne jąderka i mikrojaderka, ściśle związane z heterochromatyną chromosomową (14, 33, 34).

U człowieka dokładnie opisano chromosomy szczoteczkowe (1), przy czym w pętłach występujących z zewnętrznej części osi chromosomu stwierdzono skupienia ziarn rybonukleoproteidów i RNA. W pęcherzykach pierwotnych myszy, w okresie wzrostu oocytu, powiększają się stopniowo ciała pozajaderkowe o strukturze fibrylarniej lub fibrylarno-granularnej, co wskazuje na syntezę i skupienie się materiału genetycznego (i związanego z nim), pochodzącego prawdopodobnie z powtarzających się sekwencji DNA (5).

Spadek włączania prekursorów RNA w czasie tworzenia się jamy pęcherzyka koreluje ze zmianami w wyglądzie biwalentów; tracą one swoją zdespiralizowaną postać i przybierają formę bardziej zwartą. W okresie wzrostu pęcherzyka poprzedzającym owulację, wskutek cofania się lateralnych pętlowatych wypustek biwalenty skraca się i pogrubiają (6).

W oocytach myszy mitochondrialny DNA występuje zarówno w formie pierścieniowej, jak i w formie pętli D (D-loop form), które odpowiadają wczesnej fazie replikacji (27). Podobne obrazy opisano w dojrzałych oocytach żaby (10), jednakże ilość DNA mitochondrialnego jest w jajach płazów wiele razy wyższa.

Dojrzały oocyt ssaka jest więc wyposażony w RNA i mitochondria zawierające DNA, niezbędne dla pierwszych podziałów bruzdkowania, zanim zostanie zaktywowany genom zygoty. Pod koniec oogenezy oocyty myszy oraz prawdopodobnie innych ssaków, posiadają wprawdzie bardzo ograniczony aparat do syntezy białek — w porównaniu z oocytami płazów — jednak jest on wystarczający dla podjęcia cykli mitotycznych zanim nastąpi ekspresja genomu zygoty. Aktywność genomu zygoty rozpoczyna się wcześniej w zarodkach ssaków niż w zarodkach płazów. W każdym blastomerze 8-komórkowego zarodka myszy występują zwykle wyraźne jąderka o strukturze fibrylarno-granularnej; w jądrach moruli znajdują się obfite ziarnistości (11). Tempo inkorporacji urydyny do RNA wzrasta ostro począwszy od stadium 8-komórkowego i osiąga wysoki poziom w blastocystie (27). Między stadium 8-komórkowym a stadium blastocysty odbywa się intensywne produkcja rybosomów (27).

W zarodkach myszy i królika informacyjny RNA (messenger RNA) tworzy się wcześniej, a wyraźna wrażliwość wczesnych zarodków myszy na niskie dawki aktynomycyny (9, 16) świadczy, że utrzymanie normalnego bruzdkowania, począwszy od stadium 2-komórkowego, wymaga bardzo wczesnej syntezy nowego RNA.

Dojrzewanie oocytów

Pincus i Enzmann (28) pierwsi wykazali, że oocyt jajnikowy usunięty z pęcherzyka Graafa i umieszczony w hodowli *in vitro*, podejmuje proces mejozy aż do stadium II metafazy. Fakt ten potwierdziło w ciągu ostatniego dziesięciolecia wielu innych autorów. W naszych badaniach wykazano, że spontaniczne dojrzewanie przebiega normalnie pod względem chronologicznym i biologicznym. Przedowulacyjne oocyty królika, hodowane bez hormonów, wydzielają pierwsze ciało kierunkowe i tworzą wrzeciono II podziału mejotycznego w tym samym okresie czasu, jak oocyty dojrzewające w pęcherzykach po kopulacji. Oocyty dojrzewające *in vitro* są zdolne do zapłodnienia, zarówno *in vivo* jak i *in vitro*, a zapłodnienie przebiega monospermicznie (36).

Oocyty królika, które dojrzewały *in vitro*, a potem były chłodzone w temperaturze 10°C przez 24 godziny — zostają pobudzone do rozwoju partenogenetycznego i bruzdkują w takim samym tempie, jak poddane identycznemu traktowaniu oocyty po owulacji normalnej (35). To spontaniczne dojrzewanie oocytów zachodzi nawet wtedy, jeżeli otaczające je komórki folikularne zostaną usunięte przed włożeniem do hodowli (u szczura) (43). Proces dojrzewania jądra oocytu u ssaków nie wymaga gonadotropin ani hormonów sterydowych, mimo że są one niezbędne u płazów i ryb. Co więcej, komórki folikularne hamują oocyt, u-

trzymując jego jądro w stanie spoczynkowym (dictyate stage) przez wiele miesięcy lub lat. Wskazują na to następujące doświadczenia.

Jeżeli oocyty, wyjęte z pęcherzyków zawierających jamę, umieści się w ścisłym kontakcie z warstwą komórek folikularnych, pochodzących z otwartego pęcherzyka, to oocyty te pozostają w stadium spoczynkowym (dictyate stage). W przeciwnieństwie do tego wszystkie oocyty umieszczone na warstwach osłonki jajnika (*theca*), lub hodowane w izolacji od swych komórek folikularnych, podejmują proces mejozy (8). Płyn folikularny z wielkich, zawierających jamę pęcherzyków, również zapobiega pękaniu jąder w hodowlach oocytów izolowanych (41). Dla interpretacji tych wyników trzeba wziąć pod uwagę procesy przebiegające w pęcherzyku w okresie poprzedzającym owulację. W połowie cyklu płciowego, w czasie rui (*estrus*), po gwałtownym wzroście poziomu gonadotropin zachodzą *in vivo* drastyczne zmiany w komórkach folikularnych, zarówno we wzgórku jajonośnym (*cumulus*) jak i w warstwie ziarnistej (*granulosa*). Mianowicie komórki wzgórka rozłączają się i zostają szybko od siebie rozdzielone lepka substancją (35).

Zanikają także połączenia między komórkami warstwy ziarnistej a wzmożona działalność wydzielnicza przyczynia się do rozluźnienia warstw. Łatwo zrozumieć, że wskutek tych zmian komórki warstwy ziarnistej tracą funkcję inhibitora oocytu, co w konsekwencji prowadzi do wznowienia procesu mejozy.

W oocytach, które owulowały normalnie, natychmiast po fuzji błon plemnika i jaja rozpoczyna się dekondensacja chromatyny plemnika. Proces ten polega na rozrywaniu się mostków dwusiarczkowych, utracie nukleoproteidów przez plemnik (jak to w 1975 r. pięknie wykazali Kopecny i Pavlok na plemnikach znakowanych arginina) i wreszcie na utworzeniu dużego przedjądra męskiego. Zmiany te zachodzą pod wpływem czynników, które zostały przez nas nazwane czynnikami wzrostu przedjądra męskiego (male pronucleus growth factor/s/ — M.P.G.F.), a są prawdopodobnie związane z zerwaniem wiązań S-S. Badania cytologiczne nad zapłodnieniem oocytów, które dojrzewały *in vitro*, wykazują, że w oocytach tych nie zachodzi pęcznienie jądra plemnika. Brak czynnika M.P.G.F. w oocytach dojrzewających *in vitro* stwierdzono u wszystkich badanych pod tym względem ssaków: świni (22), człowieka (32), królika (23, 37), krowy (38, 39).

O ile dojrzewanie jądra w oocytach ssaków nie wymaga hormonów sterydowych, to nasuwa się fascynujące przypuszczenie, że sterydy jajnikowe mogą grać rolę w wytworzeniu M.P.G.F. Hipotezę tę potwierdza fakt, iż w jajach ludzkich, które dojrzewały w obecności estradiolu a następnie $17\alpha\text{OH}$ progesteronu — tworzenie się męskiego przedjądra przebiega normalnie (31, 32).

Testosteron wydaje się działać jako aktywny steryd na oocyty królika *in vitro*. Jednakże zaledwie 20 na 100 jąder plemnikowych pęcznienie równie szybko jak w oocytach, które owulowały normalnie, albo dojrzewały *in vitro* wewnątrz pęcherzyków.

Fakt, iż dojrzewanie *in vitro* wewnątrz pęcherzyków przebiega prawidłowo, został potwierdzony u królika urodzeniem dwu miotów (38, 39).

Dochodzimy więc do wniosku, że — przynajmniej u królika — pęcherzyk indukuje końcowe dojrzewanie cytoplazmy oocytu w sposób bardziej skomplikowany, niż przez samo tylko wydzielanie właściwego hormonu sterydowego pod wpływem gonadotropin.

Wnioski

Komórki somatyczne jajnika pełnią podstawowe funkcje w różnicowaniu się, wzroście i dojrzewaniu oocytów u ssaków; istnieją także dane świadczące, że — i na odwrót — oocyt sprawuje pewną kontrolę nad komórkami folikularnymi.

Tę fizjologiczną jednostkę można izolować i hodować *in vitro*, a najnowsze wyniki dotyczące sterydogenezy i dojrzewania oocytów *in vitro* są obiecujące. Może to być wydajna metoda dla przyszłych podstawowych badań nad oogenezą i funkcją pęcherzyka. Umożliwia ona produkowanie dużej ilości oocytów, a dzięki temu toruje drogę do nowych osiągnięć w embriologii ssaków i otwiera nowe perspektywy w dziedzinie płodności ludzi i zwierząt domowych.

Piśmiennictwo

1. Baker T. G., Franchi L. L.: *Chromosoma* 22, 358, 1967.
2. Byskov A. G.: *Nature* 252, 396, 1974.
3. Byskov A. G.: *J. Reprod. Fertil.* 45, 201, 1975.
4. Challoner S.: *J. Anat.* 119, 149, 1975.
5. Chouinard L. A.: *J. Cell Sci.* 12, 55, 1973.
6. Chouinard L. A.: *J. Cell Sci.* 17, 598, 1975.
7. Eskol A., Lunenfeld B., Peters H.: w książce *Gonadotropins and ovarian development*. (Eds.: Butt W. R., Crooke A. C., Ryle M.) Livingstone (Edinburgh, London) 1970.
8. Foote W. D., Thibault C.: *Ann. Biol. Anim.* 9, 329, 1969.
9. Graham C. F.: w książce *Genetic mechanisms of development* (Ed.: Ruddle F. H.). Academic Press (London, New York) 1973.
10. Hallberg R. L.: *Developmental Biol.* 38, 346, 1974.
11. Hillman N., Tasca R. I.: *Amer. J. Anat.* 26, 151, 1969.
12. Kopecny V., Pavlok A.: *J. Exp. Zool.* 191, 85, 1975.
13. Land R. B.: *J. Reprod. Fertil.* 21, 517, 1970.
14. Luciani J. M., Stahl A.: *C. R. Acad. Sci.* 273, 521, 1971.
15. Mariana J. C., de Reviens M. M., Mauleon P.: w książce *Development and maturation of the ovary and its functions* (Ed.: Peters H.), *Excerpta Med.* 1973.
16. Mintz B.: w książce *Preimplantation stages of pregnancy* (Eds.: Wolstenholme C. E. W., O'Connor M.), Little Brown (Boston) 1965.
17. Mauleon P.: *Ann. Biol. Anim.* 13, (hors série), 89, 1973.
18. Mauleon P.: *Ann. Biol. Anim.* 15, 725, 1975.
19. Monastyrsky R., Schuchner E. B., Deu R. B.: *J. Reprod. Fertil.* 39, 387, 1974.
20. Moore G. P. M., Lintern-Moore S.: *J. Reprod. Fertil.* 39, 163, 1974.
21. Moore G. P. M., Lintern-Moore S., Peters H., Faber M.: *J. Cell Biol.* 60, 416, 1974.
22. Motlik J., Fulka J.: *J. Reprod. Fertil.* 36, 235, 1974.
23. Motlik J., Fulka J.: *J. Reprod. Fertil.* 40, 183, 1974.
24. Oakberg E. F., Tyrrell P. D.: *Biol. Reprod.* 12, 477, 1975.
25. Pedersen T.: *Acta Endocrin.* 64, 304, 1970.
26. Peters A. H., Byskov A. G., Faber M.: *Proc. Symp. Development and maturation of the ovary and its function*. *Excerpta Med. Int. Congr. Series* 267, 1973.
27. Piko L.: w książce *The early development of mammals* (Eds.: Balls M., Wild A. E.) 1975.
28. Pincus G., Enzmann E. V.: *J. Exp. Biol.* 62, 665, 1935.
29. Reviens M. M.: *Praca doktorska*. Tours 1974 (nie publikowane).

30. Ryle M.: J. Reprod. Fertil. 20, 307, 1969.
 31. Soupart P.: w książce The Biology of Spermatozoa (Eds.: Hafez E. S. E., Thibault C. G.) Karger (Basel) 1973.
 32. Soupart P.: w książce La fécondation (Ed.: Thibault C. G.) Masson (Paris) 1975.
 33. Stahl A., Luciani J. M., Devictor M., Hartung D., Capodano A., Mirre C., Pardo D.: Ann. Biol. Anim. 15, 697, 1975.
 34. Stahl A., Luciani J. M., Devictor M., Capodano A., Gagne R.: Humangenetik 26, 315, 1975.
 35. Thibault C.: w książce Oogenesis (Eds.: Biggers J. D., Schuetz A. W.) University Park Press (Baltimore) 1972.
 36. Thibault C.: w książce The regulation of mammalian reproductions (Eds.: Segal S. J., Crozier R., Corfman P. A., Condliffe P. G.) C. C. Thomas, Springfield, 1973.
 37. Thibault C., Gérard M.: C. R. Acad. Sci. Paris 270, 2025, 1970.
 38. Thibault C., Gérard M., Menezo Y.: Ann. Biol. Anim. 15 (w druku) 1975.
 39. Thibault C., Gérard M., Menezo Y.: 5th Int. Seminar on Reproductive Physiology and Sexual Endocrinology (Ed.: Hubinoni P.) Karger (Basel) 1975.
 40. Trounson A. O., Chamley W. A., Kennedy J. P., Tassel R.: Austr. J. Biol. Sci. 27, 293, 1974.
 41. Tsafiri A., Channing C.: Endocrinology 96, 922, 1975.
 42. Vanhems E., Bousquet J.: Ann. Biol. Anim. 13 (hors série), 79, 1973.
 43. Zeilmaker G. M., Verhamme C. M. P. M.: Biol. Reprod. 11, 145, 1974.

Thumaczyła: prof. dr Halina Krzanowska

KAROL KOTOWSKI
Rychtal

Ocena przydatności Prolanu S w wywoływaniu rui i owulacji u swni

W miarę postępującej intensyfikacji hodowli i chowu trzody chlewnej, zagadnienie rozrodu tego gatunku zwierząt nabiera coraz większego znaczenia. Problem ten szczególnie wyraźnie zaznacza się w dużych fermach przemysłowych, jak również w większych gospodarstwach wielkostadnych. Z doniesień Koblańskiego i wsp. (4) oraz Węckowicza i wsp. (10) wynika, że sprawa rozrodu jest najbardziej istotną w działalności fermy; od rozrodczości bowiem loch zależą pozostałe efekty produkcyjne.

W Polsce brak jest danych dotyczących nasilenia niepłodności macior. Z obserwacji terenowych wynika, że około 30% pogłowia macior w gospodarstwach PGR, wykazuje zaburzenia cyklu płciowego. W niewiele mniejszym stopniu problem ten występuje w gospodarstwach indywidualnych.

Wiadomym jest, że dobra płodność i plenność macior zależy od całego szeregu czynników, zarówno zewnątrz jak i wewnątrz ustrojowych. Zmiana sposobu żywienia z tradycyjnego na przemysłowy oraz intensyfikacja produkcji trzody chlewnej, być może negatywnie wpłynęła na przebieg procesów rozrodu u tych samic.

Do najczęściej spotykanych w praktyce zaburzeń w cyklu płciowym u swni należy wymienić brak rui (*anestrus*). Dotyczy to zarówno młodych loszek przeznaczonych na remont stada, jak i loch starszych po odłączeniu od prosiąt. Zdaniem Bollwaha (1) brak rui u macior może być spowodowany: a) wadami anatomicznymi narządów rozrodczych, b) zaburzeniami hormonalnymi, c) błędami w systemie utrzymania i żywienia. Ten sam autor uważa, że błędy w systemie żywienia i utrzymania loch stanowią najczęstszą przyczynę braku rui. Podobny pogląd wyraża Mały (6).

W praktyce leczenie zaburzeń cyklu płciowego u macior sprowadza się najczęściej do

terapii preparatami hormonalnymi, bez uwzględniania czynników środowiskowych. Uzyskane przez autora (5) zachęcające wyniki synchronizacji rui u loszek przy pomocy Prolanu S, były powodem do podjęcia poniższych badań.

Materiał i metody

Obserwacje przeprowadzono na 17 loszkach oraz 91 lochach, rasy wielkiej białej polskiej, w wieku od około 9 miesięcy do 3 lat. Zwierzęta należały do dwóch gospodarstw wielkostadnych oraz kilkunastu indywidualnych. Zależnie od stanu czynnościowego narządu rozrodczego całą stawkę zwierząt podzielono na 3 grupy.

Grupa I — 17 loszek, o ciężarze ciała 100—120 kg, u których nie występowała ruja (*anestrus*), pomimo osiągnięcia dojrzałości reprodukcyjnej i dobrej kondycji.

Grupa II — 14 loch, będących w okresie 3—5 tygodni po odłączeniu od prosiąt, w dobrej i średniej kondycji, które również nie zdradzały objawów rujowych.

Grupa III — 77 loch, którym w drugim dniu po odłączeniu od prosiąt podano w iniekcji domięśniowej Prolan S w ilości 2 ml na sztukę.

Zgłoszone do leczenia zwierzęta dwóch pierwszych grup otrzymywały w iniekcji domięśniowej Prolan S: loszki 2 ml, natomiast lochy po 3 ml na sztukę, zgodnie z prospektem firmy.

Obsługę zwierząt lub właścicieli zobowiązano do dokładnej kontroli objawów rui, łącznie z badaniem odruchu tolerancji. Zwierzęta ze stwierdzonym odruchem znieruchomienia były pokrywane przez płodne knury.

Wyniki i omówienie

W grupie I z 17 loszek, w czasie od 3 do 7 dni od daty iniekcji preparatu, stwierdzono zewnętrzne objawy rujowe oraz odruch tolerancji płciowej u 13 (76,5%) sztuk. Pozostałe 3 loszki, wobec utrzymującego się *anestrus*, zostały przeznaczone na rzeź. Z 13 loszek, w rui wywołanej Prolanem S, 8 (47,1% sztuk) zaszło w ciążę po 1 kryciu, natomiast 4 loszki (23,6%) po 2-krotnym kryciu, a 1 loszka (5,8%) dopiero w trzeciej rui została skutecznie zapłodniona.