

was 14.9 millions (4.0—31.2 millions). It was estimated that after insemination about 27.0% of spermatozoons remained in ampules and pipettes. The lowest index of pregnancy (46%) was noted in cows inseminated

with 3.6—6.0 millions of spermatozoons. After intrauterine introduction of 6.0 millions or more of spermatozoons, an index of pregnancy was high and it reached about 70%.

STANISŁAWA STOKŁOSOWA, EWA GREGORASZCZUK, EDWARD WIERZCHOŚ*

Biologiczna metoda oznaczania aktywności hormonalnej PMSG*)

Pracownia Endokrynologii i Hodowli Tkanek Zakładu Fizjologii Zwierząt Instytutu Zoologii
Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Karasia 6, 30-060 Kraków
*Instytut Zootechniki, 32-083 Balice k. Krakowa

Wraz z rozwojem metody przeszczepiania zarodków wzrosło zapotrzebowanie na preparaty hormonalne używane do wywoływania superowulacji. Reakcja samic na wprowadzane hormony nie zawsze jest jednak zadowalająca (2), stąd też zrozumiałe zainteresowanie aktywnością biologiczną gonadotropin pochodzących z różnych źródeł. Z uwagi na znaczne koszty przygotowania dawczyń zarodków, korzystne byłoby kontrolowanie aktywności hormonalnej preparatów przed ich podaniem samicom. Wykorzystując możliwości hodowli *in vitro* komórek warstwy ziarnistej pęcherzyków jajnikowych, które są bardzo czułym wskaźnikiem działania gonadotropin (6), podjęto próbę oceny wzrostu tych komórek pod wpływem różnych preparatów PMSG, jako miary aktywności tych preparatów.

Materiał i metody

Do hodowli używano komórek warstwy ziarnistej pobranych z pęcherzyków jajnikowych krów w wieku 3—6 lat. Komórki pobierano z pęcherzyków o średnicy 5—7 mm, od samic będących w połowie cyklu rujowego (9—10 dzień po rui). Pobieranie materiału, zakładanie hodowli tkankowej i liczenie komórek przedstawia ryc. 1.

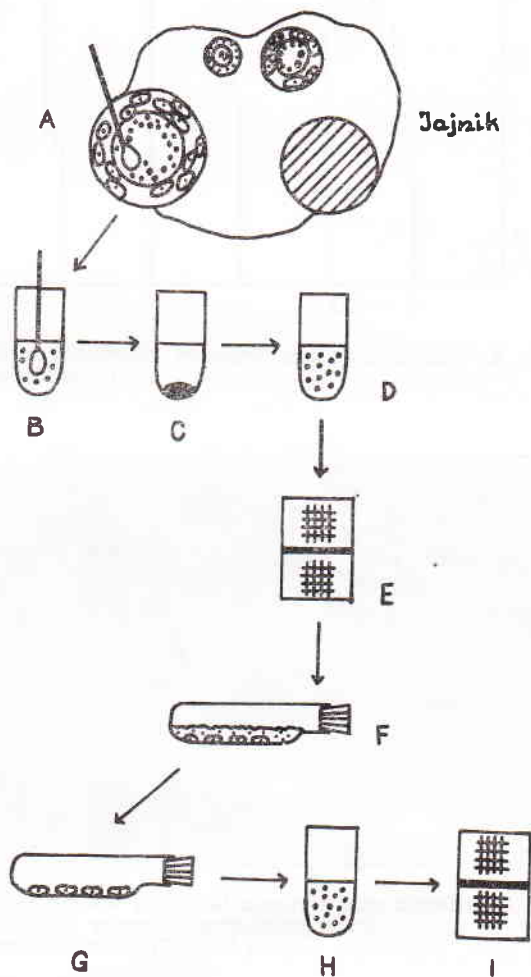
Zakładano hodowlę kontrolną bez hormonów oraz z dodatkiem następujących preparatów: Antex-Leo, Dania (10 j.m./1 ml pożywki), serogonadotropina nieoczyszczona „klacz” — Biowet (10 j.m./1 ml pożywki), Folligon — Intervet, Holandia (10 j.m./1 ml pożywki), Serogonadotropina — Biowet (10 j.m./1 ml pożywki) oraz FSH-NIH-S-1L (100 ng/1 ml pożywki).

Komórki hodowano metodą jednej warstwy w probówkach Leightona, na podłożu Parkera M 199 z dodatkiem 10% surowicy cielęcej i antybiotyków (240 j.m. penicyliny, 1 µg streptomycyny oraz 10 j.m. mykostatyny na 1 ml pożywki). Do każdej z probówek wprowadzano $7,5 \times 10^5$ komórek na 1 ml pożywki. Jedną hodowlę składała się z 30 probówek, tj. trzech na każdy z 10 dni hodowli. Codziennie oceniano trzy hodowle, pożywkę zlewano, a komórki odrywano od podłoża działaniem 0,25% roztworu trypsyny.

Wyniki i omówienie

Różnice we wzroście komórek warstwy ziarnistej pęcherzyków jajnikowych w trakcie 10-dniowej hodowli tkankowej przedstawia ryc.

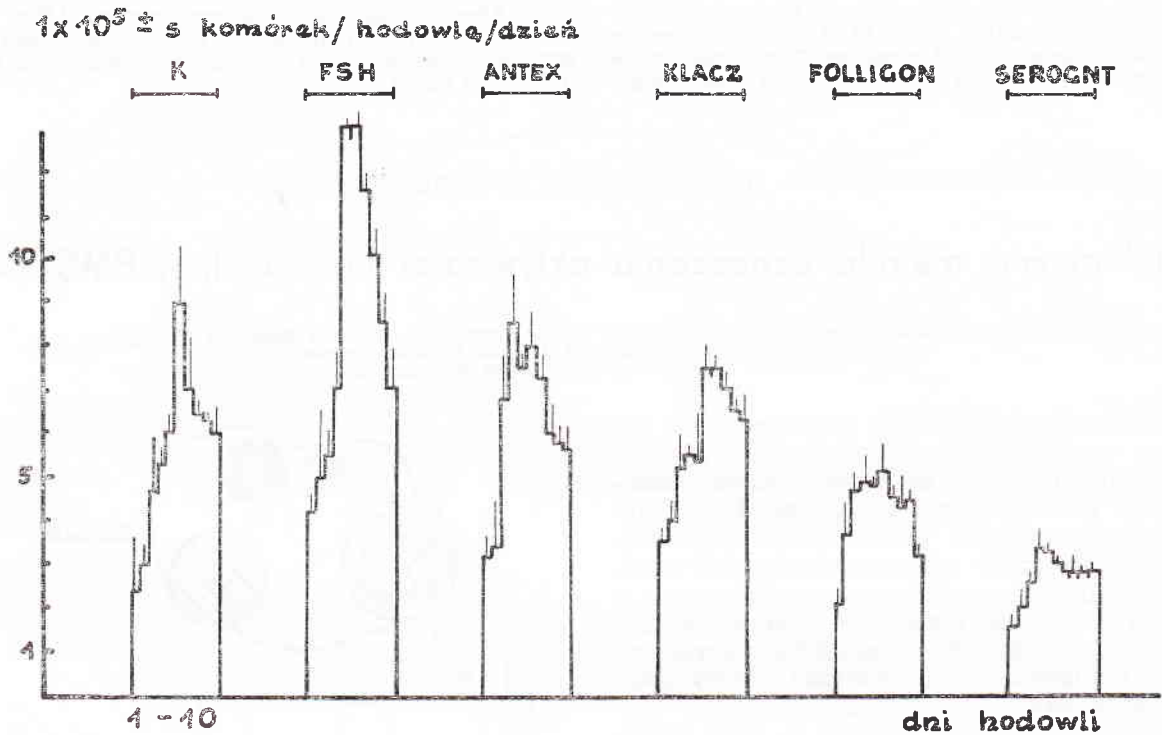
*) Praca wykonana w ramach problemu MR-II.12.10.C.6 i SSP WHO podproblemu C.P.B.P. 09.5.5



Ryc. 1. Schemat przedstawiający zakładanie hodowli komórek warstwy ziarnistej i ocenę ich wzrostu

Objaśnienia: A — pobieranie komórek warstwy ziarnistej z pęcherzyka jajnikowego przy pomocy ezy, B — zawieszanie komórek w podłożu Parkera, C — sedimentowanie komórek przez wirowanie 1000 obr./min. przez 10 minut, D — ponowne zawieszanie uprzednio odwirowanych komórek, E — liczenie komórek w komorze Bürkera, F — zawieszanie hodowli w probówkach Leightona, G — odrywanie komórek działaniem trypsyny, H — zawieszanie w podłożu odrywanych komórek, I — liczenie komórek.

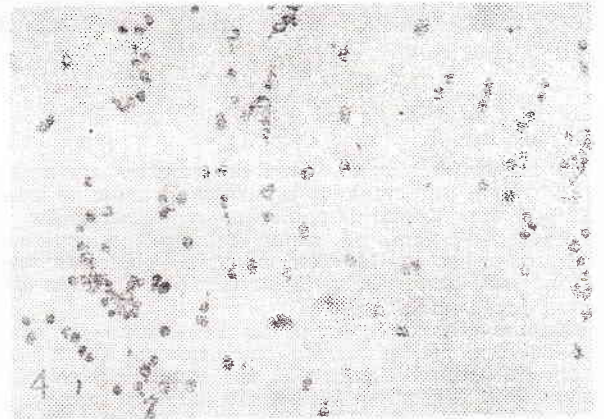
2. Stwierdzono, że komórki warstwy ziarnistej wykazywały różną wrażliwość na hormony wprowadzone do pożywki. Najsilniej pobudzał komórki do wzrostu hormon dojrzewania pęcherzyków — FSH, nieco słabiej Antex i nie-



Ryc. 2. Wzrost komórek warstwy ziarnistej w hodowlach kontrolnych (K) i pod wpływem 5 różnych preparatów gonadotropowych



Ryc. 3. Hodowla czterodniowa komórek warstwy ziarnistej w pęcherzykach jajnikowych krowy (kontrola), pow. 200X. Barwienie metodą May-Grünwalda-Giemsy



Ryc. 4. Analogiczna hodowla w pożywce z dodatkiem prep. Serogonadotropin, pow. 200X

oczyszczona gonadotropina uzyskana z surowicy żrebnej klaczy. Najmniej natomiast oddziaływały Folligon i Serogonadotropina. Różnice te również dość wyraźnie widać w kształcie komórek w hodowli prawidłowej (ryc. 3) oraz w obecności Serogonadotropin-Biowet (ryc. 4).

Komórki pęcherzyka jajnikowego są komórkami docelowymi dla hormonów gonadotropowych, które pobudzają ich proliferację i aktywność wydzielniczą. Od właściwej funkcji tych komórek zależy wzrost i dojrzewanie oocytów w pęcherzykach. Zastosowanie zatem PMSG do wywoływania superowulacji jest działaniem przede wszystkim na te komórki. Tak więc od

jakości użytego preparatu hormonalnego zależy będzie w dużym stopniu pobudzenie jajnika. W tej sytuacji wydaje się, że proponowana metoda badania wzrostu komórek warstwy ziarnistej w hodowli tkanek pod wpływem preparatów gonadotropowych używanych do wywoływania superowulacji może być pomocna w wyborze najaktywniejszych hormonów, jeszcze przed ich dopuszczeniem do użycia w praktyce weterynaryjnej. Po odpowiedniej standaryzacji może ona również służyć do oceny aktywności hormonalnej preparatów magazynowanych przez dłuższy okres czasu przez producenta.

Łatwość wykonania, duża precyzja i pewność odczytu zalecanej przez nas biologicznej metody testowania aktywności hormonalnej gonadotropin zdecydowanie przewyższają rozwiązania, które podawane są przez innych autorów (1, 3, 4, 5).

Piśmiennictwo

1. Bergfeld J., Reinhardt G., König I.: Arch. exp. Vet. med. 32, 135, 1978.
2. Betteridge K. J.: Embryo transfer in farm animals. Canada Dept. Agric. Monograph 16, 1977.
3. Klinskij D., Zirkov G. F., Aleksenko A. N.: Arch. exp. Vet. med. 36, 35, 1982.
4. Repa E., Ciuruś J., Drożdż A., Jaskólski H., Lípka A., Kardymowicz O.: Informator PAN, Zootechnika z. 6, 27, 1981.
5. Stewart F., Allen W. R., Moore R. M.: J. Endocr. 71, 371, 1976.
6. Stokłowska S.: Acta biol. Acad. Sci. hung. 33, 367, 1982.

Adres autora: prof. dr hab. Stanisława Stokłowska, ul. Karasia 6, 30-060 Kraków

Stokłowska S., Gregoraszcuk Э., Вежхось Э. — Биологический метод определения гормональной активности PMSG

Описали биологический метод определения гормональной активности гонадотропинов на основе роста клеток зернистого слоя яичниковых пузырьков под влиянием разных препаратов PMSG. Клетки брали из яичниковых пузырьков коров, находящихся в центральной части цикла охоты. Из 5 тестируемых препаратов PMSG: Folligon — Intervet, Голландия; Antex — Leo, Дания; Serogonadotropin — Biowet; неочищенный серогонадотропин „кобыла” — Biowet; а также FSH-NIH-FSH-S-1L, сильнее всего возбуждал клетки к росту гормон созреваания пузырьков — FSH.

Stokłowska S., Gregoraszcuk E., Wierzchoś E. — Biological method of hormonal activity assessment

There was described a biological method of gonadotropins activity assessment on the basis of the growth of cells of the granular layer of ovarian follicles as a result of PMSG preparations. The cells were taken from cow ovarian follicles being in the middle phase of heat cycle. Out of 5 drugs, i.s. Folligon-Intervet (Holland), Antex-Leo (Denmark), Serogonadotropin — Biowet, serogonadotropin „klacz” (Biowet), and FSH-NIH-FSH-S-1L — the most active with respect to cell stimulation proved to be FSH hormone.

ZYGMUNT LITWIŃCZUK, EWA MAJEWSKA, ZBIGNIEW MAJEWSKI

Wpływ porodów bliźniaczych na wydajność i płodność krów rasy ncb

Institut Hodowli i Technologii Produkcji Zwierzęcej Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Akademicka 13, 20-934 Lublin

W zwiększeniu częstotliwości urodzeń bliźniaczych tkwią znaczne możliwości wzrostu ogólnej liczby cieląt od posiadanej populacji krów. Tematyka dotycząca porodów bliźniaczych u bydła była niejednokrotnie omawiana, lecz opinie autorów są podzielone. Johanson i Venge (6) podkreślali, że cięża bliźniacze mają szereg stron ujemnych tj.: wydłużenie okresu międzyczycieleniowego, niepłodność cieliczek pochodzących z bliźniąt różnopłciowych (wynoszącą 90% przypadków), częste zatrzymania łożyska po porodzie i niższa o około 20% masa ciała urodzonych cieląt. Pomimo tych ujemnych aspektów autorzy ci opowiadają się za dokładnym rozważeniem korzyści wynikających z porodów bliźniaczych w aspekcie produkcji wołowiny, gdyż jest to jedna z dróg wiodących do zwiększenia liczby cieląt.

Występowanie ciąży bliźniaczej i mnogiej jest u bydła zjawiskiem stosunkowo rzadkim. Według Goszczyńskiego i Skulmowskiego (5) najczęściej ciąż bliźniaczych występuje u rasy simentaler (4,46—4,60%), następnie u bydła charolaise (2,80—3,50%), fryzyjskiego (1,30—3,32%), a najmniej u rasy aberdeen-angus, hereford (0,4%) i limousine (0,57%).

Częstotliwość rodzenia bliźniąt u krów ncb jest niewielka i jak podają różni autorzy waha

się od 1,25% u krów z rejonu poznańskiego (18) do 1,48% u krów zarodowych z okręgu lubelskiego (17). Dymnicki (3) podaje natomiast, że liczba urodzonych bliźniąt u krów ncb utrzymywanych w gospodarstwach państwowych wynosi średnio 0,81%, a częstotliwość występowania ciąż bliźniaczych zależy od wielkości produkcji i kolejnego wycielenia. Wraz ze wzrostem poziomu produkcji zwiększał się procent ciąż bliźniaczych. Frekwencja występowania bliźniąt w populacjach bydła jest wg Pipera i wsp. (9) znacznie zróżnicowana, np. w Szwecji nie znaleziono krów o większej niż 2 liczbie ciąż bliźniaczych, natomiast we Francji niektóre krowy rodziły bliźnięta nawet 6 razy.

Większe wykorzystanie bardzo cennych genetycznie krów w doskonaleniu całego stada na drodze naturalnej selekcji w kierunku większej frekwencji ciąż bliźniaczych jest stosunkowo małe. Odziedziczalność tej cechy jest bowiem bardzo niska ($h^2=0,024-0,10$). Zdecydowanie większe szanse daje zastosowanie nowych metod unasieniania, stosowanie preparatów hormonalnych bądź transplantacji zarodków na wywołanie ciąży bliźniaczej u krów (1, 13). Wywoływanie ciąży bliźniaczej lub mnogiej stanowi zdaniem Fitko (4) zabieg, który ingeruje w naturalne mechanizmy rozrodu,