

71. Wiśliński M., Studziński T.: *Annales UMCS* 11, 101, 1959.  
 72. Wiśliński M.: *Annales UMCS* 17, 77, 1962.  
 73. Young B. A., Walker V. A., Whitmore W. T.: *Can. J.*

*Anim. Sci.* 68, 173, 1988.  
 Adres autora: prof. dr hab. Tadeusz Studziński, ul. Rady Delegatów 9/7, 20-115 Lublin

JAN KRZYŻANOWSKI

## Rozwój badań nad rozrodem bydła

Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR,  
 Al. PKWN 30, 20-612 Lublin

Wiadomości z dziedziny biologii, które dały podstawy dzisiejszej wiedzy na temat rozrodu zwierząt, biorą swój początek w XIX wieku. Wielkie znaczenie poznawcze posiadało bowiem odkrycie przez Baera w 1827 roku komórki jajowej ssaka oraz opisanie procesu zapłodnienia w 1875 r. przez braci Hertwig eksperymentujących na szkarłupniach. Uzupełnieniem tych jak gdyby podstawowych, o fundamentalnym znaczeniu danych, było określenie przez Iwanowa w 1899 roku roli fizjologicznej dodatkowych gruczołów płciowych samców ssaków.

Sztuczne unasiennianie zwierząt gospodarskich po raz pierwszy przeprowadzone w roku 1780 przez Spallanzanego, docenione zostało jednak dopiero po z górą 100 latach, kiedy to ponownie podjęto próby w tym kierunku. Od tego czasu, w miarę rozwoju badań naukowych można śledzić etapy coraz to szerszego wprowadzania sztucznego unasienniania zwierząt gospodarskich do praktyki.

Okres I obejmujący lata 1780—1903 — to podejmowanie pierwszych prób unasienniania zwierząt różnych gatunków, które zapoczątkował Spallanzani. Najważniejszym wydarzeniem tego okresu było zorganizowanie przez Iwanowa w 1903 r. pierwszego punktu inseminacyjnego z myślą o poprawieniu poziomu hodowli zwierząt.

Okres następny to lata 1903—1931. Okres ten cechują intensywne badania nad usprawnieniem metod uzyskiwania nasienia. W roku 1931 zespół pracujący pod kierownictwem Miłowanowa opracowuje do dziś używany z pewnymi modyfikacjami model urządzenia do pozyskiwania nasienia od buhaja i tryka.

Okres III w rozwoju inseminacji, obejmujący lata 1931—1939, charakteryzują intensywne badania nad doskonaleniem techniki masowo stosowanego sztucznego unasienniania bydła oraz owiec, świń i koni. Prowadzono także w tym okresie intensywne badania nad rozrzedzaniem i konserwacją nasienia oraz jego transportem. Ważnym dla praktyki osiągnięciem tego okresu było opracowanie przez Larsena w 1936 r. techniki bimanualnego unasienniania krów, która do chwili obecnej jest stosowana w masowym wykonywaniu tego zabiegu na całym świecie.

Kolejny okres obejmujący lata 1939—1952 — to dostosowywanie organizacji sztucznego unasienniania do potrzeb intensywnej gospodarki

rolnej, organizowanie stacji o dużym zasięgu oraz opracowanie i wprowadzenie nowych zasad doboru buhajów na podstawie oceny wydajności mlecznej ich potomstwa. Prace nad tymi zagadnieniami prowadzone były w tym okresie głównie w Danii i USA. W 1946 r. w USA unasienniano już nasieniem jednego buhaja ponad 1000 krów rocznie.

Nowy etap w rozwoju inseminacji, mającej fundamentalne znaczenie dla wzrostu jakościowego pogłowia bydła, rozpoczął się w 1952 roku przez wprowadzenie do praktyki sztucznego unasienniania długotrwałej konserwacji nasienia w niskich temperaturach. Konserwacja nasienia przez zamrażanie stosowana na najszerszą skalę w hodowli bydła, zostaje stopniowo opanowywana i wdrażana także u innych gatunków zwierząt. Już w latach sześćdziesiątych doszło do pełnej akceptacji celowości sztucznego unasienniania zwierząt, a nawet — zwłaszcza w hodowli bydła — do wyłącznego posługiwania się tą metodą w większości krajów o wysokim standardzie rolnictwa. Warto w tym miejscu przypomnieć, że w Polsce w 1970 r. objętych było już inseminacją prawie 80% pogłowia krów i jałowic będących w rozrodzie. Pierwszą zaś stacją unasienniania bydła w Polsce została zorganizowana w roku 1945 przy Katedrze Położnictwa Wydziału Weterynaryjnego w Lublinie dzięki staraniom prof. A. Żebrackiego.

Rozwój badań nad rozrodem zwierząt i wykorzystywanie osiągnięć nauki w praktyce, odegrały decydującą rolę zarówno w rozwoju stosowania sztucznego unasienniania, jak i pogłębieniu wiedzy o całokształcie biologii rozrodu. Nie wchodząc w szczególności historii tych badań, nie wypada nie zatrzymać się jednak przy niektórych odkryciach tego okresu oraz ich genezie, ponieważ posiadają one istotne znaczenie dla postępu w hodowli. Ostatnie 20 lat to okres szczególnie nasilonych badań naukowych nad różnymi zagadnieniami płodności i niepłodności zwierząt gospodarskich. Cechuje go ponadto szybkie przenoszenie osiągnięć nauki do praktyki, a zwłaszcza do praktyki sztucznego unasienniania.

Nielatwo jest jednak wymienić najdalej idące osiągnięcia ostatniego trzydziestolecia. Wydaje się bowiem, że okres ten charakteryzuje

przede wszystkim rozwijanie i pogłębianie badań nad zagadnieniami już wcześniej podjętymi. Do takich zagadnień należą między innymi: zjawisko kapacytacji plemników w drogach rodnych samicy, zapładnianie *in vitro*, właściwości biochemiczne nasienia oraz biochemiczne mechanizmy działania układu rozrodczego — w szerokim znaczeniu tego pojęcia — samców i samic. Dominujące jednak znaczenie zarówno o charakterze teoretycznym jak również praktycznym posiadają dwa problemy, którymi zajmowano się w tym okresie. Jeden z nich dotyczy długotrwałej konserwacji nasienia, drugi zaś sterowania cyklem rujowym. W organizacji i technice sztucznego unasienniania dokonuje się zapoczątkowana w 1952 roku zasadnicza zmiana, polegająca na stosowaniu nasienia mrożonego zamiast posługiwania się nasieniem płynnym.

Podjęmowane w końcu XIX i na początku XX wieku próby zamrażania nasienia nie dawały początkowo pozytywnych rezultatów. Dopiero prace eksperymentalne prowadzone w Stanach Zjednoczonych w latach trzydziestych przez Luyeta i współpracowników pozwoliły na wysunięcie hipotezy mówiącej, że uniknięcie krystalizacji wody w żywych komórkach schładzanych poniżej 0°C i przechowywanie żywych organizmów w takich warunkach jest możliwe przy uzyskaniu tzw. zeszklenia płynów zawartych w komórce (witryfikacja), co można uzyskać przez gwałtowne oziębianie do temperatury w granicach od -40 do -60°C. W czasie tak przeprowadzonego zamrażania nie dochodzi, zdaniem Luyeta, do mechanicznego uszkodzenia komórek i tkanek tak jak to ma miejsce przy powolnym ich schładzaniu.

Próby zamrażania nasienia prostymi metodami, uwieńczone nawet pomyślnymi wynikami w postaci zapładniania samic, jakie przeprowadzili w latach pięćdziesiątych Shaffner z nasieniem koguta i Smirnow z nasieniem królika i tryka oraz prace Skatkina z nasieniem ogiera dowiodły słuszności hipotezy Luyeta. Te pozytywne efekty unasienniania samic nasieniem mrożonym były jednak przypadkowe, nie oparte na jakiejś ustalonej koncepcji teoretycznej oraz metodycznej i dlatego w dalszym ciągu nie było mowy o wykorzystaniu tych wyników do przedłużenia czasu konserwacji nasienia. Dopiero odkrycie, jakiego dokonał Polge polegające na wykazaniu, że dodatek glicerolu do rozcieńczalników nasienia pozwala na głębokie zamrożenie plemników bez utraty przez nie po rozmrożeniu ruchliwości i zdolności do zapłodnienia komórki jajowej miało przełomowe znaczenie. W 1952 roku na II Kongresie Rozrodu i Sztucznego Unasienniania Zwierząt, który odbył się w Kopenhadze, Polge wraz ze swoim współpracownikiem Rowsonem przedstawili osiągnięte pozytywne rezultaty unasienniania krów nasieniem buhajów konserwowanym metodą w suchym lodzie z dodatkiem alkoholu

tj. w temperaturze -79°C. Odkrycie Polge i Rowsona otworzyło nową erę w rozwoju inseminacji. Możliwość maksymalnego wykorzystania najbardziej cennych reproduktorów — marzenie wielu uczonych i hodowców — stała się w pełni realną. Opanowana empirycznie metoda zamrażania nasienia z dodatkiem glicerolu znalazła natychmiast zastosowanie do konserwacji nasienia oraz do konserwacji i przetrzymywania innych tkanek, między innymi przy konserwacji krwi. Dotychczasowe badania nad wyjaśnieniem mechanizmu działania glicerolu wskazują, że nie dopuszcza on do powstawania dużych kryształów lodu oraz hamuje nadmierny wzrost koncentracji soli w komórkach.

Miarą wielkości odkrycia dokonanego przez Polge i Rowsona był gwałtowny wzrost zainteresowania zjawiskami i procesami biologicznymi zachodzącymi w żywych organizmach pod wpływem zamrażania, co doprowadziło w 1966 roku do wyodrębnienia nowego kierunku naukowego — kriobiologii, która swój dynamiczny rozwój, szczególnie w ostatnich latach, zawdzięcza postępowi w równie nowej dziedzinie nauki, jaką jest kriotechnika.

Obiecujące wyniki doświadczeń nad liofilizacją nasienia, przedstawione na VIII Międzynarodowym Kongresie Rozrodu i Sztucznego Unasienniania Zwierząt w Krakowie w 1976 r. są dalszym etapem w tej frapującej dziedzinie biologii rozrodu i pozwalają przypuszczać, że ta metoda konserwacji nasienia przez wysuszenie bezpośrednio ze stanu głębokiego zamrożenia rokuje wielkie nadzieje na dalszy postęp w rozwoju sztucznego unasienniania — najskuteczniejszej metody podnoszenia produktywności zwierząt gospodarskich.

Równoległe niemal z badaniami mającymi na celu maksymalne wykorzystanie reproduktorów, prowadzono w ostatnim dwudziestolecu także intensywne badania nad możliwością oddziaływania na czas wystąpienia rui i owulacji — tak bardzo ważnych w planowaniu produkcji zwierzęcej. Osiągnięciem naukowym tego okresu, które zadecydowało o postępie w tej dziedzinie, było otrzymanie syntetycznych gestagenów o działaniu zbliżonym do progesteronu. Praktyczne wykorzystanie tych związków w celu uzyskania równoczesnej rui u liczniejszej grupy samic polega na podawaniu z karmą przez pewien okres czasu minimalnej dawki takiego preparatu, co doprowadza do zahamowania wydzielania przez przysadkę hormonu dojrzewania pęcherzyków jajnikowych u wszystkich samic niezależnie od stadium cyklu, w jakim się każda z nich znajdowała w momencie rozpoczęcia podawania. Po przerwaniu podawania progesteronu następuje odblokowanie przysadki, uwolnienie nagromadzonych w niej gonadotropin, co powoduje gwałtowny rozwój pęcherzyków Graffa, wystąpienie rui i owulacji u całej grupy samic w krótkim przedziale czasu.

Dalszy etap w rozwoju badań nad możliwością wpływania na przebieg cyklu płciowego zapoczątkowują badania Loeba (1923), który eksperymentując na świnkach morskich stwierdził, że po usunięciu macicy w fazie lutealnej, z pozostawieniem jajników, przedłuża się czas trwania ciała żółtego. Spostrzeżenie to pozwoliło Loebowi na wysunięcie hipotezy, że macica produkuje substancje wpływające w sposób cykliczny na zakończenie czynności ciała żółtego. Potwierdzeniem słuszności tej hipotezy było wykazanie w latach pięćdziesiątych, iż rzeczywiście macica szeregu gatunków zwierząt wytwarza czynnik luteolityczny. Mc Cracken w 1972 r. wykazał na owcach, że czynnikiem tym jest prostaglandyna F<sub>2</sub> alfa, obecność której odkryto już wcześniej w nasieniu wielu gatunków zwierząt. W 1973 roku udało się uzyskać syntetyczne analogi PGF<sub>2</sub> alfa, które przy stosowaniu domięśniowym już w dawkach 150 mikrogramów wykazują zdolności luteolityczne.

Wykorzystanie prostaglandyny F<sub>2</sub> alfa do sterowania cyklem rujowym polega na wywołaniu regresji ciała żółtego w dowolnym okresie fazy lutealnej, wskutek czego w ciągu kilkudziesięciu godzin dochodzi do rozwoju pęcherzyka i owulacji. Biorąc pod uwagę prawdopodobieństwo natrafienia na fazę lutealną tylko u części grupy synchronizowanych samic, iniekcje tego preparatu powtarza się po 10—12 dniach, co powoduje wystąpienie rui u wszystkich synchronizowanych samic z prawidłowym cyklem jajnikowym. W porównaniu z synchronizacją za pomocą gestagenów, postępowanie to jest znacznie uproszczone, a wyniki zapłodnień wyraźnie lepsze.

Badania nad prostaglandynami i ich wielokierunkowym zastosowaniem w leczeniu zarówno ludzi, jak i zwierząt stanowiły wyjątkowo atrakcyjny temat badań w latach siedemdziesiątych, czego wyrazem jest między innymi ogromna liczba (ponad 600) publikacji na ten temat już w pierwszej połowie lat siedemdziesiątych. Intensywność badań stosowanych nad wykorzystaniem prostaglandyn w rozrodzie zwierząt gospodarskich znalazła także wyraz w dużej liczbie doniesień na Międzynarodowym Kongresie Rozrodu i Sztucznego Unasienniania Zwierząt w 1976 r.

Najnowocześniejszą metodą biotechniczną stosowaną obecnie w rozrodzie jest biotransfer zarodków. Intensywne badania przeprowadzone w latach 70. i 80. zaowocowały wprowadzeniem tej metody sterowania rozrodem, jako metody alternatywnej dla inseminacji, szczególnie w krajach wysokorozwiniętych. W Polsce również pracuje już kilka Stacji Biotransferu Zarodków Bydłych.

Podstawowymi zaletami tej metody są:

- a) możliwość uzyskania od jednej matki o wybitnych cechach użytkowych kilkunastu sztuk potomstwa w ciągu roku,
- b) praktycznie nieograniczone możliwości pozyskiwania „biorezyn” czyli samic, w macicy

których rozwijać się będzie przeniesiony od „dawczyni” zarodek,

c) możliwość długotrwałego przechowywania zapłodnionych komórek jajowych w niskich temperaturach (−196°C) w bankach zarodków i wykorzystywanie ich w dowolnym czasie i w każdym miejscu na kuli ziemskiej (łatwy, prosty i bezpieczny transport),

d) pozyskiwane zarodki wolne są od drobnoustrojów chorobotwórczych, w tym również od wirusa otętu i białaczki, co umożliwia wykorzystanie krów o wybitnej wydajności mlecznej czy mięsnej, ale dotkniętych białaczką jako „dawczyni” komórek jajowych.

Zupełnie nieograniczone, jak się wydaje, możliwości, stwarza nam na dzień dzisiejszy nauka, a może na jutro już praktyka w zakresie inżynierii genetycznej. Umiejętność lokalizacji niektórych genów w chromosomach, a przede wszystkim możliwość ich wymiany, stwarza warunki do stymulowania rozwojem pożądanych przez człowieka cech u poszczególnych gatunków zwierząt. Niestety stwarza również niebezpieczeństwo utraty kontroli nad tak ukształtowanym osobnikiem.

Na zakończenie chcę podkreślić, iż postęp wiedzy w zakresie fizjologii rozrodu i innych pokrewnych specjalności stworzył możliwości szerokiego wykorzystania potencjału genetycznego wybitnych osobników zarówno w hodowli, jak i produkcji masowej. Odnosi się to zarówno do osobników męskich, których maksymalne wykorzystanie umożliwia długotrwałe przechowywanie nasienia w stanie zamrożenia oraz sztuczne unasiennianie, jak i do samic poprzez możliwość sterowania cyklem rujowym i owulacją, przez indukowanie superowulacji oraz transplantację zapłodnionych komórek jajowych.

Pamiętać jednak musimy, że zdolność do fizjologicznego przejawiania płodności naszych zwierząt gospodarskich, szczególnie bytujących w tzw. nowoczesnych obiektach inwentarskich, bywa ograniczana przez różne niekorzystne czynniki środowiska stworzonego przez człowieka. Niesprzyjające warunki środowiskowe, a przede wszystkim jakościowo i ilościowo niedostateczne żywienie oraz niedobór światła i brak ruchu na świeżym powietrzu, są najczęściej występującymi przyczynami konfliktu między funkcjami biologicznymi a eksploatacją zwierząt.

Pokarm jest bazą energetyczną niezbędną do sprawnego przebiegu wszelkich funkcji życiowych, a więc i procesów rozrodu oraz rozwoju cech użytkowych. Kiedy organizm narażony jest na znaczne niedobory pokarmu, witamin i składników mineralnych, wtedy wytwarza się tzw. zespół adaptacyjny, wyrażający się przede wszystkim zahamowaniem tych czynności, które nie są niezbędne dla utrzymania życia. Najwcześniejszą zatem ograniczona zostaje czynność układu rozrodczego, w następnej zaś kolejności produkcja mleka. W taki właśnie spo-

sób organizm broni się przed wykonywaniem zadań, do których nie jest genetycznie przygotowany, mobilizując jedynie posiadane rezerwy dla zachowania życia.

Tak więc przejęcie i wprowadzenie do szerokiej praktyki tych wszystkich zarówno wielkich, jak i małych osiągnięć nauki, które mogą wpływać na podwyższenie płodności, a tym samym i zwiększenie produkcji i produktywności naszych zwierząt gospodarskich, zależy przede

wszystkim od kadry wysoko kwalifikowanych specjalistów, głównie lekarzy weterynarii — posiadających gruntowną wiedzę teoretyczną oraz praktyczne przygotowanie z zakresu fizjologii i patologii rozrodu.

Wykaz piśmiennictwa u autora.

Adres autora: prof. dr hab. Jan Krzyżanowski, ul. Sowińskiego 7/23, 20-040 Lublin

ANDRZEJ WERNICKI, JERZY RZEDZICKI

## Nieswoiste, humoralne czynniki obronne wydzieliny gruczołu mlekowego przeżuwaczy

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR,  
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Zainteresowanie składem, funkcją oraz znaczeniem wydzieliny gruczołu mlekowego przeżuwaczy w aspekcie immunologicznym notowane jest od dawna. Wynika ono głównie ze specyficznego sposobu nabywania odporności przez nowo narodzone cielecia i jagnięta oraz roli wydzieliny gruczołowej w protekcji wymienia. W systemie obronnym gruczołu mlekowego uczestniczą zarówno swoiste, jak też nieswoiste składniki odpornościowe. W wielu przypadkach obserwowana jest także ich funkcjonalna współzależność.

Z całego szeregu nieswoistych czynników o charakterze białkowym najistotniejsze znacznie mają: laktoferyna, lizozym, układ dopełniacza oraz enzymatyczny układ laktoperoksydaza/tiocyanian/nadtlenek wodoru. Biologiczna rola transferyny, ubikuityny, inhibitorów hemaglutyniny, rybonukleazy,  $\alpha$ -makroglobuliny, czynnika stymulującego wzrost np. *Bifidobacterium bifidum* oraz makromolekuł nie będących immunoglobulinami nie została w medycynie weterynaryjnej w pełni wyjaśniona.

Poniżej przedstawiono krótką charakterystykę poszczególnych składników obrony nieswoistej, stanowiącą uzupełnienie oraz poszerzenie opublikowanych wcześniej przeglądów piśmiennictwa (21, 34, 38, 44).

### Laktoferyna

Laktoferyna należy do białek swoistych mleka ssaków. Wyizolowana po raz pierwszy z mleka krów przez Johansson (cyt. za 38), została także zidentyfikowana u innych przeżuwaczy. Właściwości fizyko-chemiczne oraz odrębność antygenową tego białka przedstawiono między innymi w pracach Oram i Reiter (46), Butler (7), Ahonen i wsp. (2) oraz Lunau (38).

Wysokie powinowactwo do jonów żelaza powoduje, że laktoferyna należy do bardzo silnych chelatorów. Dzięki tym właściwościom wywiera

ona bakteriostatyczny efekt w stosunku do licznych, zarówno Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych drobnoustrojów wymagających do wzrostu łatwo przyswajalnego żelaza. Brak lub znaczny niedobór tego pierwiastka hamuje procesy metaboliczne i wzrost bakterii poprzez osłabienie lub zahamowanie syntezy cytochromu, peroksydazy i katalazy (37). Silniejszy efekt bakteriostatyczny obserwowany jest w obecności swoistych przeciwciał. Natomiast obecność cytrynianów znacznie redukuje te właściwości (56).

Bakteriostatyczne działanie laktoferyny obserwowano w stosunku do *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staph. albus*, *Bacillus subtilis*, *Bac. stearotermophilus* oraz *Candida albicans* (6, 14, 45). Jej rola odpornościowa może polegać także na modulacji oraz kontroli funkcji makrofagów, limfocytów oraz granulocytów obojętnochłonnych (61).

Synteza laktoferyny odbywa się w komórkach wydzielniczych nabłonka gruczołu mlekowego (26) oraz leukocytach wielojądrzastych (24) wydzieliny gruczołowej, przyjmując wartość 2,98  $\mu\text{g}/10^6$  leukocytów. Wg oceny Harmon i Newbould (24) z tego źródła pochodzi jedynie 4,9% laktoferyny.

W wydzielinie laktacyjnej zdrowego gruczołu mlekowego laktoferyna przyjmuje koncentrację od 0,02 do 0,54 mg/ml (54), osiągając najwyższe wartości w siarze oraz wydzielinie gruczołu zaszuszonego. Siarowa koncentracja tego białka jest 10—15-krotnie wyższa w porównaniu do mleka (60). Bezpośrednio po porodzie, w pierwszym udaju siary poziom laktoferyny osiąga wartość 1287  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Następnie koncentracja jej obniża się, przyjmując trzeciego dnia po porodzie wartość 227  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , natomiast 20 dnia 89  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . W dalszym przebiegu laktacji poziom laktoferyny wyraźnie wzrasta osiągając 290 dnia 884  $\mu\text{g}/\text{ml}$