

HORMONALNE POBUDZANIE RUI I MOŻLIWOŚĆ ZAPŁODNIENIA LISIC POLARNYCH^x

Stanisław Jarosz, Bogusław Barabasz

Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie,
Zakład Hodowli Zwierząt Futerkowych

WSTĘP

U lisic polarnych w warunkach środowiskowych Folski ruja może występować /zależnie od wieku, warunków pogody i utrzymania/ w okresie od 20 lutego do 15 maja. Ze względów organizacyjnych i ekonomicznych zbyt późne ruje, występujące z końcem kwietnia lub w maju, nie są pożądane. Czynione są wysiłki w celu przyspieszenia rui i pokryć w sezonie kopulacyjnym. Benjaminsen i in. [1], Władimirow i in. [3] stosując FMSG i HCG lub wyłącznie HCG u samic, które do 16 marca nie wykazywały objawów rui, uzyskiwali pomyślne wyniki zapłodnień. Biedrow [2] stwierdził, że najlepsze wyniki pod względem liczebności miotów uzyskuje się przy stosowaniu FMSG w dawkach 150 do 250 i.u.

Celem naszych badań były próby wywołania rui i owulacji przy zastosowaniu różnych dawek i postaci FSH, PMSG i HCG oraz możliwość zapłodnienia po pobudzeniu hormonalnym.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono w ciągu dwu lat. W pierwszym roku do badań użyto 30 lisic polarnych jednorocznych i dwuletnich, które podzielono na 3 grupy. Samice I grupy, począwszy od 12 marca, otrzymywały FSH A.F. Godin /Haver Lockchart, Bayvet/ co drugi dzień w trzech

^x Praca została wykonana przy współpracy polsko-amerykańskiej w ramach tematu PL-ARS-96, P-102 z Funduszu im. Marii Skłodowskiej-Curie.

dawkach po 12,5 jednostek szczurzych, samice grupy II w tym samym czasie otrzymały PMSG krystaliczny /Folligon-Intervet./ w trzech dawkach po 100 i.u. co drugi dzień, a samice grupy III jednorazowo PMSG oleisty /Serogonadin-Orion Pharmaceutica/ w dawce 200 i.u. Wszystkie samice trzech grup po 8 dniach od rozpoczęcia iniekcji otrzymały po 500 i.u. HCG /Biogonadyl-Biomed/. W okresie podawania hormonów oceniano stopień obrzęku warg sromowych oraz zmiany cytologiczne w nabłonku pochwy. Po 8 do 14 dniach oceniano laparoskopowo lub metodą laparotomii zmiany na jajnikach.

W drugim roku przeprowadzono badania na 30 jednorocznych samicach polarnych, podzielonych na 6 grup, w tym 5 doświadczalnych i jedną kontrolną. Iniekcje hormonalne rozpoczęto 5 marca. Samice grupy I, II i III otrzymały jednorazowo gonadotropinę PMSG w zawiesinie oleistej /Serogonadin-Orion Pharmaceutica/ w dawkach: w grupie I po 100 i.u., w grupie II po 200 i w grupie III po 300 i.u. Samice grupy IV i V otrzymały PMSG krystaliczny /Serogonadotropin-Biowet/, przy czym w grupie IV jednorazowo 250 i.u. w grupie V w dwu dawkach co drugi dzień /150 i.u. i 100 i.u./. Samice grupy V /kontrolne/ otrzymały roztwór fizjologiczny. U wszystkich samic obserwowano zmiany obrzęku warg sromowych pochwy, a od momentu rozpoczęcia fazy proestralnej pobierano rozmazy w celu określenia zmian cytologicznych nabłonka pochwy. Samice wykazujące objawy rui były poddawane próbom krycia, a następnie w pierwszym do szóstego dnia po ostatnim pokryciu ubijano je w celu oceny zmian wewnętrznych narządów rozrodczych i zapłodnienia. Owulację oceniano na podstawie ilości ciałek żółtych na jajnikach, a zapłodnienie na podstawie wyptukanych z jajowodów i rogów macicy, zapłodnionych i niezapłodnionych komórek jajowych.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W pierwszym roku badań samice grupy I, którym podawano co drugi dzień po 12,5 jedn. szczurzych FSH /A.P.Godin/, wykazały - począwszy od drugiego dnia - nieznaczny obrzęk sromu, który w ósmym dniu od rozpoczęcia iniekcji osiągnął intensywność zaledwie 1,6 przy skali trzystopniowej. W rozmazach pochwowych tej grupy samic nie zaobserwowano komórek powierzchniowych nabłonka /kwasochłonnych/, charakterystycznych dla fazy rujowej /tab. 1/.

U samic grupy II, otrzymujących PMSG /Folligon-Intervet./ w trzech dawkach co drugi dzień po 100 i.u. /razem 300 i.u./ obrzęk sromu był nieco większy niż w grupie I, osiągając w siódmym dniu od rozpoczęcia iniekcji natężenie 2,0. W piątym i dziewiątym dniu w obrazie cytologicznym tej grupy samic można było obserwować komórki powierzchniowe nabłonka /kwasochłonne i zasadochłonne/, charakterystyczne dla początkowego okresu rui.

Wygląd zewnętrznych narządów rozrodczych, zmiany cytologiczne nabłonka pochwy po iniekcji gonadotropin w środkowym okresie sezonu kopulacyjnego lisów polarnych

Appearance of external reproductive organs and cytological changes in vaginal epithelium during mid period of mating season after gonadotropic injections in polar vixens

Grupa Group	Liczba zwie- rzał No. of ani- mals	Kolejne dni po iniekcji gonadotropin Consecutive days after gonadotropin injections											
		12 III		14 III		16 III		18 III		20 III			
		stopień obrzęku sromu degree of vul. swell	nabłonek pochwy vaginal cells D A B	stopień obrzęku sromu degree of vul. swell	nabłonek pochwy vaginal cells D A B	stopień obrzęku sromu degree of vul. swell	nabłonek pochwy vaginal cells D A B	stopień obrzęku sromu degree of vul. swell	nabłonek pochwy vaginal cells D A B	stopień obrzęku sromu degree of vul. swell	nabłonek pochwy vaginal cells D A B	stopień obrzęku sromu degree of vul. swell	
I Godin /FSH/ II	7	0	brak absent	1,3	- - -	1,3	100	- - -	1,6	100	- - -	1,0	- - -
Folligon /PMSC/ III	10	0	brak absent	1,3	- - -	1,6	40,5	40,2	19,3	2,0	- - -	1,4	28,9
Serogonadin /PMSC/ in oil	10	0	brak absent	1,1	- - -	1,5	- - -	- - -	2,7	15,9	- 9,9	2,5	- 97

D - komórki z warstw głębokich - cells from deep layers,

A - komórki powierzchniowe kwasochłonne - superficial acidophilic,

B - komórki powierzchniowe zasadochłonne - superficial basophilic.

0 - brak obrzęku - no swell,

1 - słaby obrzęk - slight swell,

2 - średni obrzęk - medium swell,

3 - silny obrzęk - large swell.

Tabela 2

Wymiary jajników i zmiany na ich powierzchni po ośmiu dniach od rozpoczęcia iniekcji gonadotropin

Dimensions of ovaries and changes on their surface 8 days after gonadotropin injection

Grupa Group	Liczba zwie- rząt No. of animals	Data iniekcji Date of injection	Wielkość jajników /mm/ Size of ovaries		Liczba i wielkość pęcherzy- ków Graafa No. and size of Graaf's follicles		Liczba owula- cji No. of ovulations			
			jajnik prawy right ovary	jajnik lewy left ovary	jajnik prawy right ovary	jajnik lewy left ovary	jajnik ovary	jajnik ovary		
I Godin /FSH/	7	12, 14, 16 III	13,8 x 11,2 x 7,6	15,4 x 14 x 9	20,0	0	17,5	0	0	0
II Folligon /FMSG/	10	12, 14, 16 III	16 x 12,5 x 10,1	15,1 x 12,7 x 10	19,5	0	18,0	10	3	3
III Serogonadin /PMSG/ in oil	10	12 III	26,7 x 21 x 15,6	25,1 x 21,8 x 15,6	13,3	17,6	8,0	21,1	8,5	7

U samic grupy III, które otrzymały jedną dawkę - 200 i.u. PMSG oleisty /Serogonadin/ - średnia intensywność obrzęku na siódmy dzień po iniekcji wynosiła 2,7 i była największa w porównaniu z grupą I i II. Również obraz cytologiczny pochwy w dniach 7-9 u tych samic był charakterystyczny dla rui /tab. 1/. Wymiary jajników i zmiany na ich powierzchni w 8 do 10 dnia od rozpoczęcia iniekcji hormonalnych obrazuje tabela 2. Największe wymiary jajników /dług. 26,7 x szer. 21,0 x grub. 15,6 mm/ obserwowano u samic grupy III, u których także średnia liczba pęcherzyków Graafa o średnicy powyżej 2 mm na obu jajnikach wynosiła 37,7. Również liczba owulacji w tej grupie była najwyższa, wynosząc średnio na obu jajnikach 15,5. W grupie I nie zaobserwowano na jajnikach pęcherzyków o średnicy powyżej 2 mm.

W grupie II pęcherzyki o tych wymiarach zaobserwowano tylko u dwu samic dwuletnich, u których stwierdzono także owulację. W drugim roku badań po zastosowaniu trzech różnych dawek PMSG oleistego i 2 dawek PMSG krystalicznego na początku sezonu kopulacyjnego /5 marca/ objawy rui, stwierdzone na podstawie stopnia obrzęku sromu i obrazu cytologicznego pochwy, wystąpiły w 8 do 10 dnia u wszystkich samic w grupie III po dawce 300 i.u. PMSG i tylko u jednej w grupie II po dawce 200 i.u. PMSG oleistego /tab. 3/. W pozostałych grupach: I - po 100 i.u. PMSG oleistego, w IV - po jednorazowej dawce 250 i.u. PMSG krystalicznej i w grupie V - po dwukrotnej dawce 150 i 100 i.u. PMSG krystalicznej ruje pojawiły się dopiero w 23 do 29 dnia od czasu iniekcji, a więc nieznacznie wcześniej niż w grupie kontrolnej, mimo że obrzęk sromu i obraz cytologiczny pochwy wskazywały na pewne przyspieszenie rui, w porównaniu z samicami grupy kontrolnej. Porównując te wyniki z wynikami poprzedniego roku nasuwa się przypuszczenie, że podawanie samicom PMSG na początku sezonu kopulacyjnego w dawkach uważanych na podstawie poprzednich doświadczeń za optymalne wpływa tylko nieznacznie na przyspieszenie rui i to zależnie od stanu fizjologicznego, w jakim samica znajduje się w czasie iniekcji.

W grupie III, w której objawy rui i gotowość do krycia wystąpiła na 8 dzień od rozpoczęcia iniekcji, na jajnikach obserwowano liczne /średnio 29,4/ i duże /średnio 2-13 mm/ pęcherzyki, ulegające zwyrodnieniu cystowatemu /tab. 4/. Owulacji u pokrytych samic w tej grupie nie stwierdzono, co świadczy, że dawka 300 i.u. PMSG oleistego była dla lisic zbyt wysoka. W grupie II, w której obserwowano u jednej samicy objawy rui również w 8 dniu po iniekcji 200 i.u. PMSG oleistego, wzrost pęcherzyków Graafa i owulacje przebiegały normalnie, podobnie jak u samic pozostałych grup, które wchodziły w fazę rujową znacznie później - po 20 dniach od podania gonadotropin /tab. 4/. Samice wchodzące w fazę rui w większości przypadków były kryte trzykrotnie, a następnie po 48 do 144 godzin po ostatnim pokryciu poddawane ubojowi.

Czas wystąpienia rui, stan zewnętrznych narządów płciowych oraz obraz cytologiczny nabłonka pochwy lisic polarnych po iniekcjach hormonalnych na początku sezonu kopolacyjnego

Incidence of estrus, appearance of external genitals and cytological picture of vaginal epithelium after hormonal injections in polar vixens at the start of mating season

Grupa Group	Rodzaj iniekcji Kind of injection	Liczba dni od iniekcji do wy- stąpienia rui No. of days from injection to estrus	Obrzęk sromu Vulvar swell	Komórki powierzchni- we nabłonka pochwy Superficial cells of vulvar epithelium	Komórki z warstw po- średnich Intermediate layer cells	Komórki głębokich Deep layer cells
				kwaso- chłonne acidophilic	zasado- chłonne basophilic	
I	serogonadin oleisty /100 i.u./ oil serogonadin	23	3,0	37,6	37,4	12,0
II	serogonadin oleisty /200 i.u./ oil serogonadin	8-12 23-29	3,0	72,5	24,0	2,0
III	serogonadin oleisty /300 i.u./ oil serogonadin	8	3,0	85,6	12,6	1,0
IV	serogonadotropina krystaliczna /250 i.u./ crystalline serogona- dotropin	29	2,5	13,0	58,0	20,7
V	serogonadotropina krystaliczna /150 + 100 i.u./ crystalline serogona- dotropin	23 27	2,5 3,0	27,5 33,5	13,5 34,5	41,5 11,0
VI	kontrola control	-	2,0	0,5	37,5	44,5
						17,5

Wygląd zewnętrzny jajników w fazach proestralnej i estralnej lisic polarnych po iniekcjach hormonalnych
na początku sezonu kopulacyjnego

External appearance of ovaries in proestrus and estrus phases after hormonal injections in polar vixens at
the start of mating season

Grupa Group	Rodzaj iniekcji Kind of injection	Liczba zwie- rząt No. of animals	Faza cyklu Cycle phase	Stopień obrzęku stromu Degree of vulvar swell	Liczba i wielkość pęcherz. Graafa No and size of Graaf's vesicles				Liczba owulacji No. of ovulations	
					jajnik prawy right ovary		jajnik lewy left ovary		jajnik ovary	
					do 2 mm pow. 2 mm	to over	do 2 mm pow. 2 mm	to over	prawy right	lewy left
I	serogonadin oleisty /100 i.u./ oil serogonadin	3	proestrus	2,0	24,0	-	23,0	-	-	-
		2	estrus	3,0	4,0	7,5	5,0	7,0	6	5
II	serogonadin oleisty /200 i.u./ oil serogonadin	2	proestrus	2,0	13,5	8,0	20,0	7,0	-	-
		2	estrus	3,0	2,0	1,5	6,0	8,0	5	10
III	serogonadin oleisty /300 i.u./ oil serogonadin	-	proestrus	-	-	-	-	-	-	-
		5	estrus	3,0	9,8	9,8	10,6	7,4	-	-
IV	serogonadotropina kryształiczna /250 i.u./ crystalline serogonadotropin	5	proestrus	2,0	10,6	4,6	24,0	3,6	-	-
		-	estrus	-	-	-	-	-	-	-
V	serogonadotropina kryształiczna /150 + 100 i.u./ crystalline serogonadotropin	3	proestrus	2,5	29,0	1,5	21,5	3,5	-	-
		2	estrus	3,0	5,0	3,5	6,0	6,5	3	1,5
VI	kontrola control	4	proestrus	2,0	18,0	-	21,7	2,0	-	-
		1	estrus	3,0	-	-	-	-	4	11

Średnia długość fazy rujowej badanych samic /licząc od przyjęcia samca do ostatniego pokrycia/ wynosiła 5 dni. Ilość ciałek żółtych na jajnikach z pełną owulacją wynosiła średnio 17,2, w tym na jajniku prawym 7,0 i na lewym 10,2 /tab. 5/. Natomiast ilość komórek jajowych wyłukanych z jajowodów i rogów macicy była znacznie niższa, średnio 12,5. U samicy po 144 godzinach od ostatniego pokrycia na 20 komórek jajowych wyłukanych z jajowodów i górnej części rogu macicy - 17 /85%/ było zapłodnionych, 4 w stadium blastomerów do moruli. Natomiast u samic po 48 godzinach od ostatniego pokrycia na 33 komórki jajowe wyłukane z jajowodów zaledwie 51,5% znajdowało się w stadium podziału, 2-4 blastomerów, co świadczy o tym, że znaczna liczba owulacji miała miejsce przy końcu fazy rujowej i świeżo zapłodnione komórki nie weszły jeszcze w stadium podziału.

WNIOSKI

1. Przy stosowaniu gonadotropin /FSH A.P., PMSG oleisty, PMSG krystaliczny/ w okresie pełnego sezonu kopulacyjnego lisic polarnych najlepsze efekty osiągnięto po jednorazowych dawkach 200 i.u. PMSG oleistego lub po wielokrotnych dawkach PMSG krystalicznego, stosowanego po 100 i.u. co drugi dzień, aż do wystąpienia rui i w fazie rujowej 500 i.u. HCG.
2. Dawka 300 i.u. PMSG oleistego okazała się zbyt wysoka, powodując zwyrodnienie cystowate pęcherzyków Graafa.
3. Optymalne dawki PMSG zastosowane na początku sezonu kopulacyjnego samic w fazie wczesnego proestrus nie spowodowały przyspieszenia fazy rujowej.

LITERATURA

1. Benjaminsen E., Tomasgard G.: Framkalling av brunst hos blarevtispe red hjelp av hormoner. Norsk Veterinaertidsskrift, 1974, 86 /11/, 542-544.
2. Biedrow A.Z.: Grawogormon i jego wlijanie na organizm samok piescow. Biologia i Patologia Puszných Zwieriej. III Wsiesojuznaja Naucznaia Konferencja, Pietrozawodsk, USSR, 23-26.06. 1981.
3. Władimirow A.V., Gladilow I.A.: Opyt primienienia grawogormona dlja stimulacii reproduktywnej funkcii u samok gołubych piestsow w period gona. Naucznyje Trudy. NIIPZiK, 15, 58-61, 1977.

С.Ярош, Б.Барабаш

СТИМУЛИРОВАНИЕ ТЕЧКИ И ОВУЛЯЦИИ,
А ТАКЖЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ПЕСЦОВ

Р е з ю м е

Соответствующие опыты проводились в двух этапах. Первый касался стимулирования течки и наблюдения за ростом Графовых пузырьков и овуляцией, а второй - также возможности оплодотворения яичных клеток. В I-ом этапе 30 самкам разделенным на три группы давали следующие количества гонадотропинов: в I-ой группе FSH /А.П.Годин/ в 3 дозах по 12,5 м.е. через каждый второй день, во II-ой группе кристаллический PMS /фоллигон/ в 3 дозах по 100 м.е. через каждый второй день, в III-ей группе масляный PMS /Серогонадин/ 200 м.е. в одной дозе. Восемь суток спустя все самки получили 500 м.е. HCG через 8-14 дней проводилась лапароскопная или лапаротомная оценка яйцеводов и внутренних органов размножения. Во II-ом этапе исследования проводились на ³⁰од-
волетних песцах разделенных на 6 групп. Самкам в группах I-III давали масляный PMS в следующих дозах: в I-ой группе - 100 м. е., во II-ой группе - 200 м. е., в III-ей группе - 300 м.е., в IV-ой группе давали однократно 250 м.е. кристаллического PMS, в группе V-ой 250 м.е. в двух дозах через каждый второй день /150+100 м.е./; VII-ая группа была контрольной. Самки с симптомами течки подвергали попыткам спаривания. В I-ом этапе опыта симптомы течки были обнаружены через 8-12 суток от начала инъекции только у самок II-ой и III-ей группы, а у двух самок III-ей группы появилась также овуляция. Во II-им этапе исследований симптомы течки были обнаружены через 10 суток после инъекции исключительно у самок III-ей группы, которые были подвергнуты спариванию. У них не обнаружено ни овуляции ни оплодотворения.

У самок I-ой и II-ой группы течка появилась и они были подвергнуты спариванию до 25-го дня от начала инъекции. У них была обнаружена овуляция и оплодотворенные яичные клетки. У самок остальных групп до 31-го марта не наблюдались симптомы течки.

S. Jarosz, B. Barabasz

ESTRUS AND OVULATION INDUCTION AND FERTILIZATION
POSSIBILITIES IN POLAR VIXENS

Summary

Experiment involved two stages. The first concerned estrus induction and observations of the growth of Graafian follicles and ovulation process while the second one referred to the possibilities of egg cell fertilization. During the first stage 30 females divided into 3 groups were given gonadotropin according to the following schedule: group I was given FSH /A.P.Godin/ in 3 doses of 12,5 i.u. every second day; group II: crystalline PMS /Folligon/ in 3 doses of 100 i.u. every second day; group III: oil PMS /Serogonadin/ in 1 dose of 200 i.u. After 8 days all the females were given 500 i.u. of HCG each. After 8-14 days laparoscopic examination of ovaries and internal reproductive organs was performed or the technique of laparotomy was used for this purpose.

The second stage involved studies conducted on 30 one-year-old vixens divided into 6 groups. Females in groups 1-3 were given oil PMS at single doses: group I - 100 i.u., group II - 200 i.u., group III - 300 i.u., group IV - a single dose of 250 i.u. of crystalline PMS, group V - 250 i.u. at two doses every second day /150 + 100 i.u./ . Group VI was control. Females showing estrus symptoms were subjected to mating trials.

During stage I of the experiment estrus symptoms were found in 8-14 day after the start of injections only in group II and III females, and in two females of group III also ovulation. During stage II only females in group III have shown estrus symptoms by 10 days and were mated. However, no ovulation or fertilization were stated. In females of I and II groups estrus occurred and they were mated up to 25 days following the start of injections. Ovulation and egg fertilization were stated in them, however, in the females of the remaining groups no symptoms of estrus were stated up to 31 March.