

Sposoby wyznaczania okresu płodnego suki

Edyta Sweklej, Elżbieta Horoszewicz, Roman Niedziółka,
Katarzyna Andraszek, Marta Król

*Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny, Instytut Bioinżynierii i Hodowli Zwierząt,
ul. B. Prusa 14, 08-110 Siedlce, owce@uph.edu.pl*

Psy towarzyszą człowiekowi w życiu codziennym już od stuleci. Są pomocą w pracy pasterzy, współpracują z policją, pogotowiem ratunkowym, są wykorzystywane w różnego rodzaju terapiach. Wierne swym właścicielom bronią domostw, sprawiają radość, a nierzadko są „prawą ręką” osób niewidomych. Na świecie istnieje wiele ras, różniących się wielkością, zachowaniem, zmiennym rozwojem i czasem dojrzewania, zarówno osobniczego jak i płciowego. Różnorodność ta ma wpływ na skuteczność zapłodnień oraz liczebność szczeniąt w miocie (Dubiel, 2000).

W dzisiejszych czasach tak wiele czynników wpływa na organizm suki, że nie wystarczy już metoda uśrednionej oceny do ustalenia jej okresu płodnego. Ustalenie tego czasu w sposób dokładny jest szczególnie ważne w hodowli psów w przypadkach, gdy samiec jest w odległym miejscu, a w celu zapłodnienia niezbędna jest podróż jednego ze zwierząt oraz wówczas, kiedy zapłodnienie następuje w drodze inseminacji. Zapotrzebowanie na test, ustalający dokładny okres płodności suki, skłania do skorzystania z możliwości, jakie dają badania laboratoryjne. Za ich pomocą istnieje możliwość wyznaczenia idealnej chwili do tego, by skutecznie sukę pokryć i uzyskać szczenięta (Bukowska i in., 2009; Niżański i in., 2007). Celem niniejszej pracy jest przedstawienie metod wyznaczania okresu płodnego suki.

Fizjologia cyklu rujowego suki

Suka osiąga dojrzałość płciową zwykle między 6. a 12. miesiącem życia, nie później jednak niż do 24. miesiąca życia. Na czas pojawienia się pierwszej ciecarki mają wpływ: wiel-

kość suki, warunki środowiskowe, warunki żywieniowe, stan zwierzęcia (otyłość bądź niedoborowe żywienie – opóźnienie wystąpienia ciecarki bądź słabe jej wyrażenie), utrzymywanie zwierząt w odosobnieniu od innych samic i samców, narażanie suki na ciągły wysiłek fizyczny lub stres. Suki ras dużych osiągają dojrzałość płciową później, a ich ruja występuje rzadziej (nawet tylko raz w roku) niż u suk ras małych (Niżański i in., 2007). Od osiągnięcia dojrzałości płciowej cykl u zdrowej suki składa się z następujących po sobie faz:

– **Proestrus** – faza przedrujowa, trwa średnio około 9 dni, ale może podlegać dużym wahaniom, czyli skróceniu do 2 dni i wydłużeniu nawet do 27 dni. Objawem rozpoczęcia tej fazy jest obrzęk warg sromowych oraz wypływ krwistosurowiczej wydzieliny z dróg rodnych. Mocz jest oddawany przez sukę częściej niż zwykle, w niewielkich ilościach, w celu zaznaczenia terenu feromonami, które są produkowane przez gruczoły przedsionka pochwy. Ze względu na wydzielane feromony zwiększa się zainteresowanie psów samicą. W tej fazie nie dochodzi jednak u suki do owulacji i dlatego nie dopuszcza ona psów do krycia;

– **Estrus** – faza właściwa (rujowa) rozpoczyna się w momencie dopuszczenia pierwszego psa do krycia, a kończy w momencie ostatniego krycia. Jest to faza cyklu reprodukcyjnego, w której suka jest płodna i może zająć w ciążę. **Jest to jeden z najważniejszych okresów w rozrodzie psów.** Zwykle trwa 9 dni, ale może ulegać wahaniom. W fazie rui zmniejsza się wyciek krwistosurowiczy z dróg rodnych, stając się jednocześnie mniej krwistym. Zwykle na początku rui dochodzi do owulacji (3. dzień rui właściwej – 11.

dzień od zauważenia krwawienia). Z praktycznego punktu widzenia hodowcy często nie pozwalają zbliżyć się psom do sukki w okresie krwawienia, natomiast dopuszczają samce po zakończeniu fazy krwawej – suka jest wtedy płodna i może być skutecznie pokryta. Aby uniemożliwić zapłodnienie, należy odczekać minimum 2 tygodnie od zakończenia krwawienia. Jednak, czas rozwoju i dojrzewania pęcherzyków jajnikowych oraz reakcje behawioralne suk są bardzo różne, dlatego mogą zaistnieć sytuacje takie, jak:

- a) owulacja pojawia się w trakcie 9-dniowego *proestrus* – najwcześniej 7. dnia tego cyklu,
- b) owulacja pojawia się 7. dnia fazy *proestrus*, a suka weszła już w fazę *estrus*,
- c) owulacja następuje najpóźniej 30. dnia od rozpoczęcia *proestrus* i suka dopuszcza w tym czasie do krycia,
- d) owulacja następuje najpóźniej 30. dnia od rozpoczęcia fazy *proestrus*, suka nie akceptuje samca.

Czas trwania owulacji u danej sukki w kolejnych rujach może być zmienny; do większości owulacji dochodzi jednak pomiędzy 48. a 72. godziną po szczycie stężenia LH (lutropina – hormon luteinizujący) w surowicy krwi. Komórki jajowe są gotowe do zapłodnienia po 2–3 dniach od owulacji. Z uwagi na fakt, że plemniki w drogach rodnych przeżywają nawet do 7 dni, istnieje możliwość otrzymania w jednym miocie szczeniąt po wielu ojcach, jeśli sukki w jednej cieczce były kryte przez kilka psów;

– **Metestrus** (zwana: *diestrus*) – faza porujowa, trwa około 56–60 dni u sukki ciężarnych i około 80–100 dni u nie ciężarnych. Jej koniec zaczyna się wraz ze spadkiem poziomu progesteronu w surowicy krwi do minimum, tj. poniżej 1,0 ng/ml (3,0 nmol/l). Należy podkreślić, że w początkowym etapie tej fazy zanika obrzęk warg sromowych i wyciek z dróg rodnych; suka przestaje akceptować samca. Z powodu wzrostu prolaktyny w surowicy krwi, od połowy fazy *metestrus* u sukki często występują objawy ciąży urojonej, o ile nie doszło do zapłodnienia;

– **Anoestrus** – okres bezrujowy, czyli faza braku aktywności jajników; trwa od momentu zakończenia *metestrus* lub porodu do rozpoczęcia *proestrus*. Długość tego okresu jest uzależniona od rasy i obejmuje okres od miesiąca do 2 lat (rasy małe do 12 mies., rasy duże do 18–24

mies.). Na czas tej fazy, oprócz rasy, mogą wpływać:

- a) feromony – stymulują sukki do wejścia w fazę *proestrus*; sukki przebywające w grupie wykazują tendencje do wchodzenia w ruję jednocześnie,
- b) pora roku – może wystąpić tylko jeden cykl rujowy w ciągu roku (np. u psów rasy basenji) z tendencją do występowania na wiosnę (Bukowska i in., 2009; England, 1998; Zduńczyk i Janowski, 2002).

Cykl rujowy sukki charakteryzuje monoestralność, co oznacza, że następna ruja pojawia się po długim okresie spoczynku, najczęściej dwukrotnie w ciągu roku – wczesną wiosną oraz jesienią. Średnia długość okresu międzyrujowego wynosi u sukki 7 miesięcy; jest to jednak ściśle uzależnione od różnic osobniczych i rasowych. Na przykład, u owczarek niemieckich przerwy między okresami płodności (cieczkami) wynoszą około 5 miesięcy, natomiast, dla porównania, u bokserów około 8 miesięcy. U sukki po 8. roku życia okresy między cieczkami wydłużają się; nieznacznie wydłużyć ten okres może też przebyta ciąży (Zduńczyk i Janowski, 2002).

Termin krycia i metody wyznaczania

Problemy z wyznaczeniem terminu krycia są najczęściej związane z wystąpieniem nieprawidłowego cyklu płciowego (podwójna cieczka lub późne owulacje), występowaniem cichej rui lub ze względu na przeprowadzenie inseminacji nasieniem świeżym lub konserwowanym. Do wyznaczenia okresu płodnego sukki stosuje się kilka metod oraz badań laboratoryjnych. Jedną z nich, mało skomplikowaną, często wykorzystywaną przez hodowców, ale najmniej skuteczną jest uśredniona ocena (metoda statystyczna oparta na liczeniu dni od początku *proestrus* i wyznaczeniu średniego terminu krycia). Kolejną jest metoda biologiczna, polegająca na obserwacji zmian fizjologicznych oraz zachowania sukki. Czas, kiedy suka wykazuje odruch tolerancji, może być wyznacznikiem do określenia terminu krycia bądź inseminacji. Należy podkreślić, że niektóre sukki nie wykazują zmian w obrębie zewnętrznych narządów płciowych bądź wykazują w czasie rui szczególną tolerancję lub niechęć do danego samca. W przypadku

metody biologicznej wykorzystuje się też tzw. omacywanie, czyli badanie palpacyjne przez powłoki brzuszne. Bada się wielkość oraz miękkość macicy (w fazie rujowej macica jest bardziej zwarta, powiększona) (Nalazek, 1999; England, 1998; Dubiel, 2000). Do bardziej skutecznych w wyznaczeniu okresu płodnego suki zalicza się między innymi metody badań oporności śluzu pochwowego, waginoskopię, badanie cytologiczne oraz badanie stężenia hormonów w osoczu krwi suki.

Pomiar oporności śluzu pochwowego jest polecany jako badanie uzupełniające; niestety niesie ze sobą ryzyko fałszywych wyników ze względu na wpływ wielu czynników na oporność śluzu. Badanie jest przeprowadzane przy użyciu aparatu Damińskiego. W czasie *proestrus* następuje wzrost oporności elektrycznej śluzu pochwowego, którego szczyt występuje w czasie owulacji, a następnie spadek oporności wskazuje na dogodny moment do krycia (Zduńczyk i Janowski, 2002; England, 1998; Nalazek, 1999; Dubiel, 2000; Nizański i in., 2007).

Waginoskopia to badanie błony śluzowej pochwy poprzez wziernikowanie lub przy użyciu endoskopu. W momencie rui nie zawsze wymaga farmakologicznego przygotowania suki do zabiegu, natomiast u suk poza rują wykonuje się ją w znieczuleniu ogólnym. Do badań używa się endoskopów o sztywnych końcówkach i fiberoskopów. Wzierniki pozwalają na obserwację jedynie złącza przedstonkowo-pochwowego. W zależności od wahań hormonalnych w czasie cyklu dochodzi do zmian w wyglądzie nabłonka pochwy. W fazie *anoestrus* błona śluzowa jest jasnoróżowa, pokryta niewielką ilością przezroczystego śluzu. Faza *proestrus* charakteryzuje się rozpulchnionymi błonami śluzowymi, które stają się jaśniejsze oraz bardziej wilgotne, pomiędzy fałdami można zaobserwować krwistą wydzielinę. Faza wczesnego *estrus* to marszczenie się śluzówki i powstawanie okrągłych fałdów wtórnych. W *estrus*, czyli w czasie od 2. do 7. dnia po wyrzucie LH, fałdy śluzówki zapadają się, staje się ona bardziej pomarszczona i błada – jest to znak, że suka wchodzi w płodny okres. Późny *estrus* charakteryzuje się zaostreniem fałd i brakiem wydzieliny. W fazie *metestrus* fałdy stają się zaokrąglone z widocznymi plamkami (England, 1998; Nalazek, 1999; Dubiel, 2000).

Badania cytologiczne to nie tylko metoda diagnostyczna, dotycząca chorób narządu rodowego, ale także możliwość wyznaczenia okresu płodnego suk. Pozwalają one na zauważenie zmian, zachodzących w obrębie błon śluzowych pochwy pod wpływem zmieniającego się stężenia estrogenów. Z pochwy właściwej pobiera się wymaz, a następnie barwi i dokonuje oceny widocznych pod mikroskopem komórek (England, 1998; Nizański i in., 2007). Badania cytologiczne są pośrednią metodą do monitorowania zmian hormonalnych w organizmie. Za ich pośrednictwem można wyznaczyć okres płodny, ale nie gwarantujący skutecznego zapłodnienia. Ze względu na zbliżającą się owulację preparat najlepiej jest pobrać około 5. dnia od rozpoczęcia *proestrus*. Kolejne rozmazy należy wykonywać w odstępach 2–3-dniowych. Mierzony jest odsetek komórek bezjądrzastych, to znaczy stosunek ilości komórek jądrzastych do wszystkich komórek nabłonka razy 100. Krycie powinno być przeprowadzone, gdy odsetek komórek bezjądrzastych jest wyższy niż 80% i nie obserwuje się komórek granulocytarnych. W momencie pojawienia się komórek granulocytarnych i zmniejszenia odsetka komórek bezjądrzastych w rozmazie kończy się okres płodny (Nizański i in., 2009).

Kolejną metodą, którą możemy wyznaczyć okres płodny, jest pomiar stężenia hormonów w osoczu krwi. Tradycyjnie do ich wyznaczenia wykorzystywana jest metoda radioimmunologiczna. Trzeba jednak wziąć pod uwagę, że wyniki mogą docierać do lekarza z opóźnieniem. Badania hormonów można też przeprowadzić metodą ELISA, która jest znacznie szybsza (wyniki otrzymujemy już w przeciągu godziny). Wykorzystuje się w niej oznaczenie koncentracji progesteronu za pomocą testów barwnych. Na zasadzie porównania do kolorów wzorcowych wyróżniamy cztery wyniki testu:

- kolor ciemnoniebieski – świadczy o stężeniu poniżej 1 ng/ml i konieczności powtórzenia testu za dwa dni,
- kolor niebieski – stężenie 1–2,5 mg/ml; konieczność powtórki testu za dwa dni,
- kolor jasnoniebieski – stężenie 2,5–5 mg/ml; konieczność powtórzenia testu,
- kolor biały – stężenie powyżej 5 mg/ml; możliwość krycia suki.

Drugim z wykonywanych testów jest BVT (Ovu-

lation Test), za pomocą którego można wyznaczyć stężenie progesteronu w osoczu bądź surowicy krwi; również polega na ocenie reakcji barwnej i przyrównaniu jej do kolorów wzorcowych:

– kolor ciemnoniebieski świadczy o stężeniu poniżej 1 ng/ml i konieczności powtórzenia badania po dwóch dniach,

– kolor niebieski – stężenie 1–2,5 ng/ml; konieczność powtórzenia badania po dwóch dniach,

– kolor jasnoniebieski – stężenie 2,5–8 ng/ml; sukę można kryć w 1. i 3. dniu od badania,

– kolor biały świadczy o stężeniu powyżej 5 ng/ml; sukę należy kryć natychmiast.

Do testów ilościowych niezbędny jest czytnik oraz wykreślenie krzywej standardowej na podstawie wartości standardowych. Testy jakościowe pozwalają na określenie stężenia poprzez ocenę reakcji barwnej ze standardami progesteronu (Hames i in., 2000; Kozik i in., 2001; Dębińska-Kieć i Naskalski, 2002). W celu określenia stężenia progesteronu w surowicy krwi można również zastosować tzw. test kropkowy (Canine Ovulation Timing Test). Płytkę testową zawiera trzy miejsca (kółeczka). W sytuacji, gdy po nakropleniu na nie surowicy zabarwieniu na kolor niebieski ulegnie jedno z pól, to odczytujemy wynik jako stężenie powyżej 7,5 ng/ml i istnieje możliwość krycia suk. W przypadku,

jeśli zabarwieniu na kolor niebieski ulegają dwa kółka – jest to wynik w zakresie 2–7 ng/ml z możliwością krycia suk, natomiast jeśli zabarwiają się trzy pola – to znak, że stężenie nie przekracza 1 ng/ml i test należy powtarzać codziennie (Zduńczyk i Janowski, 2002).

Podsumowanie

Heterogeniczność czynników, wpływających na organizm suk, wymaga stosowania różnych metod określania okresu płodnego. Okazuje się, że metoda uśrednionej oceny jest już za mało wiarygodna.

Dzięki poszczególnym badaniom hodowca ma możliwość mniej lub bardziej dokładnego ustalenia okresu, w którym zapłodnienie będzie najbardziej skuteczne. Najpewniejszą metodą wyznaczania okresu płodnego suk oraz zwiększenia skuteczności zapłodnienia są laboratoryjne badania stężenia hormonów w osoczu krwi samicy.

Wyznaczenie odpowiedniego czasu na badania i znalezienie optymalnego momentu zapłodnienia wymaga znajomości budowy anatomicznej, fizjologii układu rozrodczego oraz behawioryzmu samicy, który jest charakterystyczny dla poszczególnych faz cyklu i pozwala na zauważenie wszelkich nieprawidłowości.

Literatura

- Bukowska D., Włodarczyk R., Jaśkowski J. (2009). Najczęstsze przyczyny zaburzeń płodności u psów. Część II. Samice. *Życie Wet.*, 84: 144–147.
- Dębińska-Kieć A., Naskalski J. (2002). Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Wyd. Urban & Partner, Wrocław.
- Dubiel A. (2000). *Rozród psów*. Wyd. AR we Wrocławiu.
- England G. (1998). *Rozród i położnictwo psów według Allena*. Wyd. SIMA WLW, Warszawa.
- Hames B.D., Hooper N.M., Houghton J.D. (2000). *Biochemia – krótkie wykłady*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Kozik A., Rapała-Kozik M., Guevara-Lora I. (2001). *Analiza instrumentalna w biochemii. Wybrane problemy i metody instrumentalnej biochemii analitycznej*. Seria Wyd. Inst. Biol. Mol. UJ, Kraków.
- Nalazek A. (1999). *Rozród psów i odchów szceniąt*. Wyd. HANA-PRESS, Warszawa.
- Niżański W., Klimowicz M., Dejneka G. (2007). Brak rui u suk. Część 1. Uwagi na temat rozpoznawania i leczenia. *Mag. Wet.*, 112: 32–35.
- Niżański W., Dzimira S., Twardoń J. (2009). *Cytodiagnostyka w rozrodzie suk*. Wyd. AWA, Wrocław.
- Zduńczyk S., Janowski T. (2002). *Zaburzenia rozrodu psów i kotów*. Wyd. UWM, Olsztyn.

METHODS OF FERTILE PERIOD DETECTION IN BITCHES

Summary

The paper discusses selected methods of detection of the fertile period in canine females applied in the breeding practice. The growing interest in breeding pedigree dogs in Poland stimulates the search for effective methods of mating, and thus increases the number of pups in the litter. Finding the best method requires in-depth knowledge on both the physiology of the organism and the psycho-physical characteristics of the bitch to be examined. A review of available methods allows concluding that the best method is by measuring blood serum levels of sex hormones (progesterone). It is the most accurate way of determining the physiological status of the bitch and allows a precise timing of the mating. It should also be taken into account, however, that the breeder has to wait a rather long time to get the test results.



Fot. E. Horoszewicz