

JAN SŁAWOMIRSKI, PAWEŁ SYSA*, JAN KRZYŻANOWSKI

Badania cytogenetyczne buhajów w Wychowalniach oraz Stacjach Hodowli i Unasieniania Zwierząt

Klinika Położnicza Instytutu Nauk Klinicznych Wydziału Weterynaryjnego AR,

Al. PKWN 30, 20-512 Lublin

* Katedra Histologii i Embriologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
ul. Nowoursynowska 166, 02-766 Warszawa

Rozwój badań z zakresu cytogenetyki spowodował wykrycie szeregu zmian w chromosomach wszystkich podstawowych gatunków zwierząt domowych. Szczególnie wiele badań poświęcono bydłu (1—6, 13, 14—19, 23, 25, 26). Zmiany te określane jako aberracje dotyczą zarówno liczby, jak i struktury poszczególnych chromosomów autosomalnych (25) lub płciowych (26). Nosiciele niektórych aberracji eliminują się z hodowli sami. Dzieje się tak w przypadku, gdy taki osobnik ginie (często jako zarodek) lub jest niepłodny. W szeregu jednak przypadkach gdy samoeliminacja nie następuje, wykrycie i eliminacja nosicieli możliwe są jedynie na drodze badań laboratoryjnych. Badanie takie i oparta o nie selekcja jest tym bardziej wskazana, ponieważ część nosicieli takich aberracji wykazuje obniżoną płodność (9, 20). Cytogenetyczna analiza i eliminacja nosicieli nieprawidłowości genetycznych prowadzone są obecnie w szeregu krajach europejskich (1, 2, 8, 9, 11, 14, 17).

Ponieważ w naszym kraju wykryto w roku 1975 buhaja z transplokacją 1/29 (24), słuszne wydało się prowadzenie dalszych badań mających na celu wykrycie buhajów w populacji krajowej będących nosicielami aberracji chromosomowych. Na potrzebę takich badań wskazują również zalecenia Konferencji Specjalistów Cytogenetyki przy RWPG (Rostock — 1983).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 450 buhajach rasy ncb, charolais i HF, pochodzących z 2 Wychowalni Buhajów, 6 Stacji Hodowli i Unasieniania Zwierząt oraz 10 Punktów Kopulacyjnych.

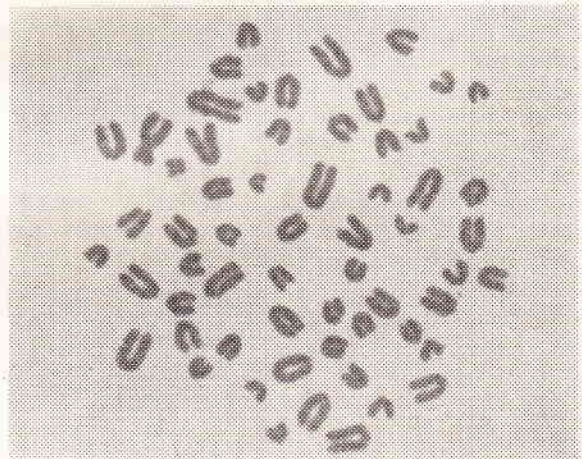
Analizę karyotypów przeprowadzono w oparciu o chromosomy metafazowe uzyskane z hodowli limfocytów krwi obwodowej poszczególnych zwierząt. W celu zapobieżenia krzepnięciu krwi stosowano heparynę produkcji Polfa w dawce 50 jμm/ml krwi. Do wszystkich hodowli użyto stymulatora podziału komórek LF-7 (fazeolina produkcji Wytwórni Surowic i Szczepionek w Krakowie). Osłonę antybiotykową hodowli stanowiła penicylina krystaliczna (100 jμm/ml hodowli) ze streptomycyną (0,1 mg/ml hodowli). Wszystkie hodowle prowadzono przez 72 godziny w temperaturze 38°C, przy czym na 2 godziny przed ich zakończeniem podawano kolchicynę firmy Houde (Colchineos) w dawce 0,05 mg/ml hodowli.

Preparaty barwiono metodą rutynową (barwnikiem Giemsa) oraz metodą prążków GTG (z użyciem trypsyny) pozwalającą na dokładniejszą analizę chromosomów. Analizę tę przeprowadzano bezpośrednio pod mikroskopem oraz ze zdjęć fotograficznych wyko-

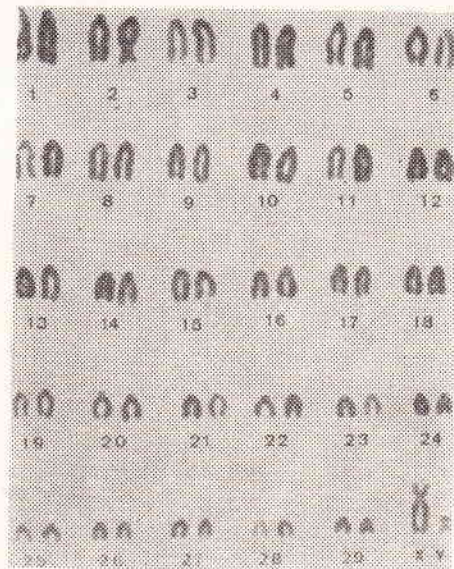
rzystując Photomikroskop III firmy Opton (RFN). Dla każdego zwierzęcia wykonywano dokumentację fotograficzną stanowiącą jego atest cytogenetyczny.

Wyniki i omówienie

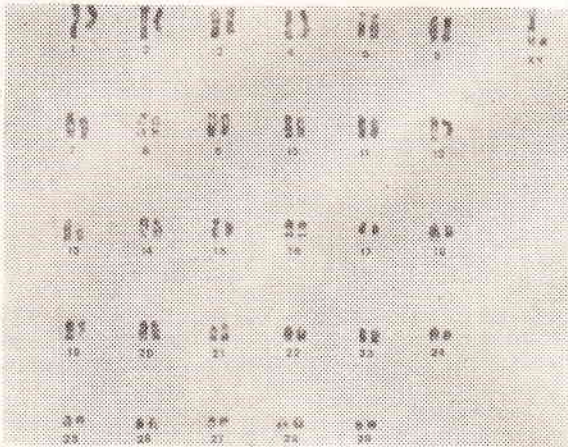
Przeprowadzona u 450 buhajów cytogenetyczna analiza wykazała u 444 zwierząt prawidłowy karyotyp 60XY. Buhaje te posiadały po 58 akrocentrycznych chromosomów autosomal-



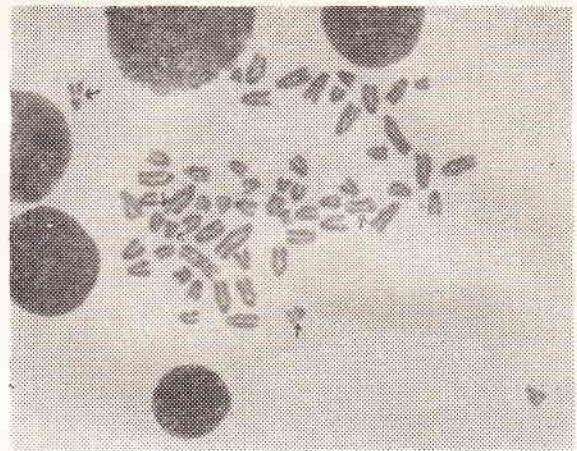
Ryc. 1. Płytki metafazowa — karyotyp prawidłowy 60XY (barwienie Giemsa)



Ryc. 2. Kariogram buhaja z prawidłowym karyotypem 60XY (barwienie Giemsa)



Ryc. 3. Kariogram buhaja z prawidłowym kariotypem 60XY (barwienie metodą prążków G)



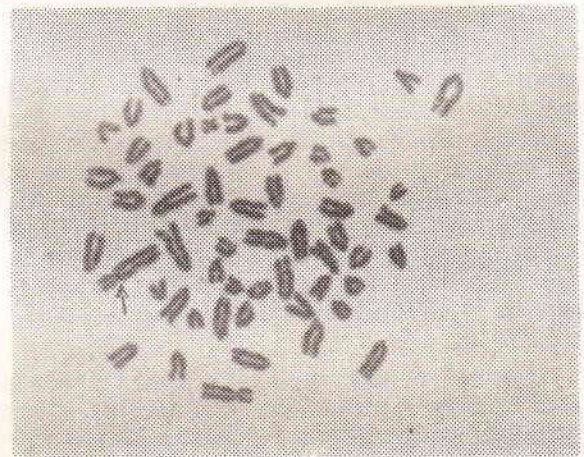
Ryc. 4. Płytki metafazowe buhaja z licznymi uszkodzeniami chromatyd — strzałkami oznaczono miejsca pęknięć i złamań (barwienie Giemsa)

nych oraz po 2 submetacentryczne chromosomy płciowe (XY) — (ryc. 1, 2, 3).

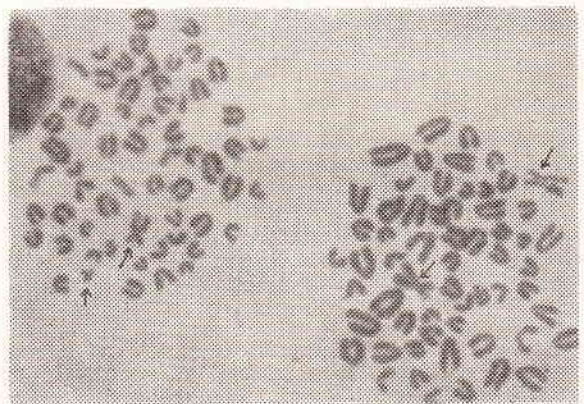
U 6 buhajów (1,4% analizowanych zwierząt) stwierdzono różnego rodzaju nieprawidłowości (aberracje) dotyczące liczby, bądź struktury poszczególnych chromosomów. Odsetek zwierząt, u których obserwowano aberracje był wyraźnie mniejszy od odsetka buhajów z podobnymi wadami wykrytych we Francji (10%), Norwegii (4,2%) i Szwecji (14%). Podkreślić jednak należy, iż w wymienionych 3 państwach przeanalizowano od kilku do kilkunastu tysięcy zwierząt, co pozwoliło na dokładniejszą ocenę pogłowia.

W badaniach własnych najczęściej stwierdzaną nieprawidłowością był chimeryzm komórkowy 60XX/60XY, który wystąpił u 4 buhajów rasy ncb (ryc. 6). Wystąpienie 2 linii komórkowych (w tym jednej żeńskiej) jest charakterystyczne dla samców bydła pochodzących z różnopłciowych ciąż bliźniaczych i mnogich (26). Zdarzają się jednak przypadki wystąpienia chimeryzmu komórkowego u osobników urodzonych pojedynczo. Dzieje się tak w przypadku wczesnego obumarcia zarodka — współbliźniaka płci żeńskiej. Buhaje będące nosicielami kariotypu 60XX/60XY są z reguły płodne. Podkreślić jednak należy, iż pochodzą one najczęściej z linii hodowlanych zwierząt, w których istnieje tendencja do poliwulacji spontanicznych, a w konsekwencji do ciąż mnogich. Ponieważ ciążę takie u bydła uważane są przez większość autorów za niekorzystne, słusznym wydaje się eliminowanie z rozrodu buhajów z mozaiką chromosomową.

U buhaja rasy charolais stwierdzono jedną z najbardziej rozpowszechnionych w świecie aberracji chromosomowych — translokację 1/29 (7—9, 12, 14, 17, 19, 20, 23, 24, 25). Nieprawidłowość tę stwierdzono w naszym kraju również u buhaja rasy czerwonej polskiej oraz u buhaja rasy ncb. Omawiana aberracja (ryc. 5), będąca trwałym połączeniem (fuzją centryczną) chromosomu pierwszej pary (największego autosomu) z chromosomem pary 29 (najmniejszym



Ryc. 5. Płytki metafazowe buhaja z translokacją 1/29 — strzałką oznaczono translokację (barwienie Giemsa)



Ryc. 6. Płytki metafazowe buhaja z kariotypem 60XX/60XY — strzałki oznaczają chromosomy płciowe (barwienie Giemsa)

autosomem) dziedziczy się w przypadku formy heterozygotycznej u 50% potomstwa tak męskiego, jak i żeńskiego. Dotychczasowe badania (7—9, 13, 20) wykazały także, iż zwierzęta obciążone tą wadą genetyczną wykazują obni-

zenie płodności, wyrażające się wczesną obumieralnością zarodków. Z tego też powodu nosiciele tej aberracji eliminuje się w szeregu krajach Europy (Szwecja, Norwegia, Francja, Czechosłowacja). Brak odpowiednich przepisów uniemożliwia jednak przeprowadzenie takiej eliminacji w naszym kraju.

U buhaja rasy ncb (lat 2) przeprowadzona analiza wykazała w kariotypie istotne zmiany jakościowe (ryc. 4). Liczba chromosomów we wszystkich analizowanych płytkach metafazowych była prawidłowa (58 autosomów i 2 chromosomy płciowe XY). Zmiany jakościowe dotyczyły uszkodzeń chromatyd dużych, średnich i małych chromosomów, w tym również chromosomu płciowego X. Objęte zmianami chromosomy wykazujące złamania, pęknięcia czy też przewężenia jednej lub obydwu chromatyd wystąpiły w 50% analizowanych metafaz. Podobne zmiany w chromosomach obserwowali Halnan i wsp. (10) oraz Schwerin i wsp. (22). Według tych autorów aberracje związane były z hipoplazją jąder. Falnan i wsp. wykazali ponadto, iż omawiane aberracje dziedziczą się, przy czym w 5 pokoleniu występują u całego potomstwa. W związku z eliminacją analizowanego przez nas buhaja nie można było potwierdzić wyników uzyskanych przez wyżej wymienionych autorów. Wydaje się jednak, iż zwierzęta wykazujące ten rodzaj aberracji chromosomowej winny być eliminowane z rozrodu.

Przeprowadzone badania wykazały obecność nosicieli wad genetycznych wśród reproduktorów bydła w naszym kraju. Wykazywały one również przydatność analizy cytogenetycznej do oceny genetycznej buhajów, dając tym samym podstawę do eliminacji zwierząt obciążonych aberracjami chromosomowymi. Wydaje się, iż badania te należy kontynuować i wdrożyć na stałe do praktyki hodowlanej poprzez wydanie odpowiednich przepisów, na mocy których będzie można eliminować nosicieli aberracji chromosomowych. Postępowanie takie wydaje się być tym bardziej słuszne, iż zalecone zostało w 1983 roku na Konferencji Specjalistów Cytogenetyki przy RWPG.

Piśmiennictwo

1. Amrud J.: Hereditas 62, 293, 1969.
2. Amrud J., Nes N.: X Nordiska Veterinärmötet., Stockholm 2, 585, 1966.
3. Bongso A., Basur P. K.: Cornell Vet. 66, 476, 1976.
4. Bruere A. N., Chapman H. M.: Vet. Rec. 92, 613, 1973.
5. Darre R., Berland H. M., Queinnee G.: Ann. Genet. Sel. Anim. 6, 297, 1974.
6. Eldridge F. E.: Heredity 65, 353, 1974.
7. Gustavsson I.: Hereditas 63, 68, 1969.
8. Gustavsson I.: Hereditas 69, 101, 1971-c.
9. Gustavsson I.: 2 Europ. Kolloq. Zytogenet., Giessen 29-30 Sept. 184, 1975.
10. Halnan C. R. E.: Vet. Rec. 91, 522, 1972.
11. Hansen K. M.: Hereditas 63, 453, 1969.
12. Harvey M. J. A.: Vet. Rec. 89, 110, 1971.
13. Harvey M. J. A., Logue D. N.: 2 Europ. Kolloq. Zytogenet., Giessen 29-30 Sept. 155, 1975.
14. Höhn H.: Giessner Beitr. Erbp. path. Zuchthyg. 3, 7, 1971.
15. Kovacs A., Papp M.: Ann. Genet. Sel. Anim. 9, 528, 1977.
16. Logue D. N., Harvey M. J. A.: Vet. Sci. 25, 7, 1978.
17. Loida L.: Veterinarstvi 24, 342, 1974.
18. Pollock D.: Vet. Rec. 90, 309, 1972.
19. Popescu C. P.: J. Heredity 68, 139, 1977-a.
20. Refsdal A. O.: Acta Vet. Scand. 17, 190, 1976.
21. Rieck G. W.: Chromosomal Errors in Relation to Reprod. Failure, Paris 12-14 sept., 165-c, 1973.

22. Schwerin M., Langhammer H.: Arch. Tierz. 26, 1, 1983.
23. Stranzinger G. F., Förster M.: Experientia 32, 24, 1976.
24. Sysa P. S.: Medycyna Wet. 32, 353, 1976.
25. Sysa P. S., Sławomirski J.: Medycyna Wet. 35, 489, 1979.
26. Sysa P. S., Sławomirski J.: Medycyna Wet. 35, 563, 1979.

Adres autora: dr Jan Sławomirski, ul. P. Sciegiennego 3/5, 20-434 Lublin

Славомирский Я., Сыса П., Кжижановский Я. — Цитогенетические исследования быков на фермах для выращивания молодняка и станциях разведения и осеменения животных

Исследованиями объями 450 быков нч-п, шароле и герефордской пород. Цитогенетический анализ провели, опираясь на метафазные хромосомы, полученные из культуры лимфоцитов периферической крови.

На 450 исследованных животных у 444 голов обнаружили правильный кариотип (60XY). У 4 быков нч-п породы появился клеточный химеризм 60XX/XY. Один бык породы шароле был носителем aberrации 1/29, у одной же особи нч-п породы отметили многочисленные повреждения автосомальных хромосом и половой хромосомы X (трещины, переломы и сужения).

Sławomirski J., Sysa P., Krzyżanowski J. — Cytogenetic studies of bulls in Rearing Houses, Breeding and Insemination Centers

The studies were performed on 450 bulls Lowland Black and White, Charolais and Holstein-Friesian. Cytogenetic analysis of metaphasal chromosomes of peripheral blood lymphocyte cultures was done. In 444 out of 450 animals a normal caryotype (60XY) was observed. In 4 Lowland Black and White bulls cell chimerism was found (60XX/60XY), in one charolais bull aberration 1/29 was noted, and in one Lowland Black and White bull multiple deformations of autosomal chromosomes and a sexual chromosome X (fractures, breaks and chokes) were noted.

MAMMERICKS M., PORTELLE D., BURNEY A.: Zastosowanie metody ELISA z użyciem przeciwciał monoklonalnych do wykrywania przeciwciał dla enzoptycznej białaczki bydła w indywidualnych i zbiorczych próbkach mleka. (Application of an Enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA) involving monoclonal antibody for detection of BLV antibodies in individual or pooled bovine milk samples). Zbl. Vet. Med. B, 32, 526-533, 1985 (7).

Dotychczas w rozpoznawaniu enzoptycznej białaczki bydła są wykorzystywane testy serologiczne, które umożliwiają wykrycie obecności swoistych przeciwciał w surowicy. W celu eliminacji badań krwi coraz częściej jako materiał diagnostyczny wykorzystuje się mleko. Przydatność mleka i siary oceniono stosując metodę ELISA z użyciem przeciwciał monoklonalnych. Badania przeprowadzono z 92 próbkami mleka i siary krów z białaczką (wynik dodatni testu AGID) i 7 próbkami mleka od krów wolnych od białaczki. Równocześnie przebadano w kierunku białaczki surowice tych zwierząt. Odczyn AGID dawał 20% wyników pozytywnych z mlekiem krów z białaczką, podczas gdy odczyn ELISA umożliwiał wykrycie swoistych przeciwciał dla wirusa enzoptycznej białaczki praktycznie we wszystkich próbkach mleka. Średnie miano przeciwciał w mleku wynosiło 1/27 wysokości miana przeciwciał w surowicy. Przydatność odczynu ELISA do wykrywania swoistych przeciwciał dla wirusa enzoptycznej białaczki bydła w mleku zbiorczym jest niewielka.