

Aberracje chromosomowe u zwierząt gospodarskich objętych kontrolą kariotypu w Instytucie Zootechniki

Ewa Słota
Barbara Danielak-Czech
Barbara Rejduch
Anna Kozubska-Sobocińska
Instytut Zootechniki, Zakład Immuno- i Cytogenetyki
Balice k. Krakowa

1. Wprowadzenie

Intensywny rozwój badań cytogenetycznych w ciągu trzydziestu pięciu lat zaowocował diagnozą licznych przypadków anomalii chromosomowych u ważnych, z ekonomicznego punktu widzenia, gatunków zwierząt gospodarskich. Nieprawidłowości kariotypu, liczbowe i strukturalne, stwierdzono u bydła (1,2), świń (3), owiec i kóz (4), koni (5), zwierząt futerkowych (6) oraz drobiu (7).

We wnikliwych badaniach osobników obarczonych aberracjami chromosomowymi wykazano istotny i niekorzystny wpływ nosicielstwa nieprawidłowości kariotypu przede wszystkim na płodność oraz na rozwój zwierząt (1,2). Uzyskane wyniki były powodem wzrostu zainteresowania hodowców badaniami cytogenetycznymi, którego efektem było opracowanie programów kontroli cytogenetycznej materiału zarodkowego (8,9).

Badania cytogenetyczne nabierają szczególnego znaczenia w aspekcie coraz powszechniejszego stosowania metod biotechnologicznych w produkcji zwierzęcej, takich jak sztuczne unasienianie i przenoszenie zarodków. Metody te wykorzystywane są na szeroką skalę w rozrodzie bydła, gdzie sztuczna inseminacja obejmuje się około 60% pogłowia krów (ponad 2 mln sztuk). Skala stosowania sztucznego unasieniania u świń jest mniejsza i dotyczy około 35% (600 tys. sztuk) pogłowia loch. Sztuczne unasienianie pozwala na znacznie większe wykorzystanie potencjału rozrodczego samców, a równocześnie wymaga zaostrzenia kryteriów selekcji materiału rozrodczego. Stąd badania cytogenetyczne prawidłowości kariotypu powinny stanowić jedno z kryteriów oceny osobników męskich użytkowanych rozplodowo. Eliminacja osobników obarczonych anomaliami chromosomowymi zapobiega rozprzestrzenianiu się tych wad w dużej populacji potomstwa.

Z kolei metodą, pozwalającą na lepsze wykorzystanie potencjału rozrodczego samic, jest superowulacja i przenoszenie zarodków. Metoda ta jest stosowana w Polsce u bydła na skalę praktyczną jeszcze w ograniczonym zakresie (ponad tysiąc zabiegów rocznie), można jednak przypuszczać, że w kolejnych latach liczba ta będzie rosła. Krowy — dawczyni zarodków również stanowiąc powinny najlepszy, wyselekcjonowany materiał zarodowy i także te osobniki należy objąć kontrolą kariotypu.

W Instytucie Zootechniki analizy cytogenetyczne rozpoczęto w roku 1978, obejmując nimi początkowo bydło, a następnie owce, świnię i konie. W pierwszym okresie badań, w latach 1978-1980, w analizach preparatów chromosomowych, uzyskiwanych po hodowli limfocytów, stosowano wyłącznie konwencjonalne metody barwienia, umożliwiające wstępną diagnozę niektórych aberracji — przede wszystkim liczbowych. Od roku 1981 wprowadzono sukcesywnie techniki barwienia różnicowego — GTG, RBA, QFQ, CBG i Ag-I stosowane również w późniejszym okresie do barwienia chromosomów wydłużonych (HRBT). Umożliwiały one jednoznaczny identyfikację par chromosomów, jak również precyzyjne określanie punktów pęknięć w ocenie aberracji strukturalnych.

W latach dziewięćdziesiątych analizy cytogenetyczne poszerzono o obserwacje chromosomów podczas podziału mejotycznego, a w tym kompleksów synaptonemalnych w stadium pachytenu profazy I. Metody te pozwoliły na ocenę przyczyn obniżenia płodności u nosicieli aberracji chromosomowych.

Ze względu na sygnalizowane w licznych publikacjach relacje pomiędzy nieprawidłowościami kariotypu a niektórymi parametrami oceny użyteczności rozplodowej, analizowano wskaźnik niepewtarzalności rui u bydła oraz średnią liczbę prosiąt w miocie u świń. Wyniki uzyskane dla nosicieli aberracji porównywano ze średnimi dla populacji zwierząt o prawidłowym kariotypie.

2. Aberracje chromosomowe u bydła

Najliczniejszą grupą zwierząt objętą badaniami cytogenetycznymi była populacja bydła, licząca 2460 sztuk, w której zdiagnozowano następujące anomalie chromosomowe:

- chimeryzm leukocytarny 60,XX/60,XY — 81 przypadków (10,11),
- translokację robertsonowską 1;29 — 27 przypadków, w tym 14 przypadków u potomstwa po 3 spokrewnionych buhajach (10,12),
- translokację robertsonowską 13;24 — 3 przypadki w grupie pięciorączków (13),
- translokację robertsonowską 5;22 — 1 przypadek, (14),
- trisomię chromosomów płciowych XXY — 3 przypadki (15-17).

Chimeryzm 60,XX/60,XY stwierdzano u różnych ras bydła. Ta kategoria nieprawidłowości kariotypu, polegająca na obecności dwóch populacji komórek — o kariotypie męskim i żeńskim, w krwi osobników pochodzących z ciąży bliźniaczych różnopłciowych, jest najczęściej spotykaną anomalią chromosomową u tego gatunku. Jałówki — nosicielki tej nieprawidłowości są bez-

plodne, podczas gdy buhaje wykazują obniżenie niektórych parametrów nasienia, przede wszystkim ruchliwości i koncentracji plemników, w porównaniu do tych samych parametrów u osobników o prawidłowym kariotypie (18). Trzeba jednak zaznaczyć, że chimeryzm XX/XY nie jest bezpośrednią przyczyną zaburzeń rozwoju cech płciowych jałówek. Stwierdzenie tej anomalii jest jedynie dowodem na to, że w życiu płodowym rozwinęły się połączenia naczyniowe w obrębie kosmówki omoczniowej zarodków. Liczne przypadki chimeryzmu leukocytarnego zostały zdiagnozowane również w innych polskich laboratoriach cytogenetycznych (19-21).

TABELA 1

LICZBA PRZYPADKÓW ABERRACJI CHROMOSOMOWYCH ZDIAGNOZOWANYCH U ZWIERZĄT GOSPODARSKICH

Typ aberracji chromosomowej	Gatunek			
	bydło	świnie	owce	konie
chimeryzm leukocytarny	81	-	2	1
translokacja robertsonowska:		-	-	-
1;29	27*	0	0	0
13;24	3*			
5;22	1			
translokacja wzajemna:				
8;14		4*		
7;13		24*		
1;5		1		
2;3			1	
inwersja pericentryczna (1)		29*		
trisomia XXY	3			
ogółem	115	58	3	1

* osobniki, u których zidentyfikowano aberracje chromosomowe były spokrewnione

Translokacja robertsonowska 1;29, charakterystyczna dla bydła aberracja strukturalna, polegająca na fuzji w miejscu centromeru chromosomów 1. i 29. pary, diagnozowana była w następujących rasach: polskiej czerwonej, Charolais, czarno-białej oraz krzyżówkach krów czarno-białych z buhajami Blonde d'Aquitaine. Z kolei fuzje centryczne: 13;24 (trzy przypadki wśród pięcioraczek) i 5;22 zostały opisane w rasie czerwono-białej.

Ocena wskaźnika niepowtarzalności rui u krów, określająca płodność buhajów, wykazała obniżenie tego parametru u trzech buhajów rasy Blonde d'Aquitaine — nosiciele translokacji 1;29 o 17% w porównaniu z buhajami o prawidłowym kariotypie (10), podczas gdy dane literaturowe sygnalizują 5% obniżenie tego wskaźnika u buhajów nosiciele omawianej aberracji (22).

Rozbieżności te mogą być spowodowane niejednakową liczebnością ocenianych grup zwierząt i różnicami rasowymi.

Próbie wyjaśnienia niekorzystnego wpływu translokacji robertsonowskich na płodność nosicieli oparto na analizach obrazu chromosomów w poszczególnych stadiach mejozy. W preparatach uzyskanych z wycinków jąder buhajów obarczonych translokacją 1;29 oraz 5;22 zaobserwowano charakterystyczną strukturę wśród koniugujących chromosomów. Miała ona formę triwalentu, złożonego z chromosomu o zmienionej strukturze i jego dwóch homologów (10,14). Nieprawidłowy rozdział triwalentu (*non-disjunctio*) w dalszych stadiach mejozy był przyczyną powstawania aneuploidalnych gamet, a w konsekwencji aneuploidalnych zarodków, zamierających we wczesnych stadiach życia płodowego.

Pojedyncze przypadki translokacji 1;29 wykryto również w innych polskich ośrodkach, zajmujących się oceną kariotypu bydła — w SGGW w Warszawie (23), AR w Poznaniu (21) oraz w pracowniach cytogenetycznych w Zakładach Higieny Weterynaryjnej (24,25).

U dwóch buhajów rasy czarno-białej oraz jednego rasy polskiej czerwonej zdiagnozowano trisomię chromosomów płciowych — w dwóch przypadkach w czystej formie — 61,XXY i w jednym w postaci chimeryzmu 61,XXY/60,XX (15-17). Należy zaznaczyć, że linia 60,XX pochodziła od bliźniaczej siostry buhaja — nosiciela trisomii (17). Wszystkie buhaje obarczone zespołem XXY, również zdiagnozowane w innych ośrodkach na świecie, wykazywały hipoplazję jąder, której towarzyszyła azoospermia lub oligospermia, jako wynik różnego stopnia degeneracji kanalików nasiennych w poszczególnych obszarach jąder.

Należałoby postawić sobie pytanie jak kształtować się będą straty finansowe wynikające z użytkowania w rozrodzie buhajów obarczonych wadami kariotypu. Dotychczas w Instytucie Zootechniki nie przeprowadzono szczegółowej analizy efektów ekonomicznych, wywołanych nosicielstwem aberracji chromosomowych u bydła, stąd przy wprowadzaniu badań cytogenetycznych do oceny buhajów przeznaczonych do rozrodu kierowano się wynikami uzyskanymi w Szwecji, gdzie straty spowodowane nosicielstwem translokacji 1;29 kształtowały się na poziomie 2 mln koron rocznie (26).

3. Aberracje chromosomowe u świń

W grupie 1247 świń różnych ras i linii zdiagnozowano trzy różne translokacje wzajemne oraz inwersję pericentryczną:

- trcp(8;14)(p21;q25) — u czterech spokrewnionych świń rasy pbz, (27,28),
- trcp(7;13)(q13;q46) — u 24 spokrewnionych osobników rasy Duroc (27,28),
- trcp(1;5)(q21;q21) — u jednego knura rasy pbz (27),
- inv(1)(p22;q11) — 29 przypadków, u lochy rasy pbz i jej potomstwa (29).

Punkty pęknięcia chromatyd dla poszczególnych aberracji strukturalnych zostały ustalone przy zastosowaniu barwienia różnicowego (GTG i RBA), wykonanego na chromosomach wydłużonych (27-29).

Translokacje wzajemne, polegające na wymianie odcinków chromatyd pomiędzy niehomologicznymi chromosomami, są aberracjami strukturalnymi, charakterystycznymi dla świń. W Polsce zostały zidentyfikowane w Instytucie Zootechniki, natomiast na świecie były diagnozowane w wielu ośrodkach badawczych (3,8).

Wpływ nosicielstwa translokacji wzajemnych na płodność obarczonych nimi osobników oceniono na przykładzie $trec(8;14)$ i $(7;13)$. Stwierdzono, że średnia liczba prosiąt w miocie u nosicieli translokacji $trec(8;14)$, wykorzystywanych do reprodukcji w małym stadzie, była niższa o 25% w porównaniu do liczby prosiąt w miotach osobników o prawidłowym kariotypie. Z kolei efekt, spowodowany użytkowaniem nosiciela translokacji $(7;13)$ w dużej populacji wyrażał się 48% obniżeniem płodności (28,30).

Przyczyną obniżenia płodności, podobnie jak w przypadku translokacji robertsonowskich u bydła, był nieprawidłowy przebieg mejozy. Obserwacje chromosomów mejotycznych, a szczególnie tworzących się w stadium pachytenu kompleksów synaptonemalnych koniugujących homologicznych chromosomów pozwoliły, w przypadku nosicieli translokacji, na identyfikację tetravalentów. Najczęściej przybierały one postać krzyża i były złożone z chromosomów, między którymi nastąpiła wymiana odcinków chromatyd oraz ich homologów o prawidłowej strukturze. Także w tym przypadku nieprawidłowy rozdział chromosomów był przyczyną powstawania aneuploidalnych gamet i zarodków, obumierających we wczesnych stadiach życia płodowego (27,28).

W wyniku oceny ekonomicznych efektów, powodowanych aberracją chromosomową typu $trec(7;13)$ (z zastosowaniem rachunku symulacyjnego) określono straty z tytułu nosicielstwa tej nieprawidłowości u knura na 8000 USD przy kryciu naturalnym i 162 000 USD w przypadku stosowania sztucznej inseminacji (30). Model symulacyjny opracowano na bazie krajowej populacji aktywnej świń objętej testowaniem i oceną użyteczności.

W przypadku nosicieli inwersji nie stwierdzono zaburzeń procesu mejozy i obniżenia płodności (29,31).

Z kolei w AR w Poznaniu zdiagnozowano przypadek inwersji paracentrycznej chromosomu pary 8. u knura o prawidłowych parametrach nasienia, użytkowanego rozplodowo w stacji inseminacji (32). W ramach badań cytogenetycznych u świń, prowadzonych w SGGW w Warszawie stwierdzono przypadki chimeryzmu komórkowego 38,XX/38,XY z równoczesnym wystąpieniem cech interseksualizmu (33).

4. Aberracje chromosomowe u owiec

Populacja owiec, poddanych badaniom cytogenetycznym była mniejsza i składała się z 470 osobników różnych ras. W tej grupie zwierząt zdiagnozowano tylko dwie aberracje chromosomowe:

- $trec(2q+;3p-)$ u tryka rasy wrzosówka (34),

-chimeryzm komórkowy 54,XX/54,XY u dwóch owiec — jednej rasy wrzosówka (35) i jednej rasy merynos.

W wyniku selekcji tryk obarczony translokacją wzajemną chromosomów 2. i 3. pary został usunięty z hodowli, stąd brak dalszych danych dotyczących efektów tej nieprawidłowości.

Z kolei owca — nosicielka chimeryzmu leukocyтарnego 54,XX/54,XY posiadała zewnętrzne narządy płciowe typu żeńskiego, natomiast podskórnice wystąpiły u niej gonady męskie, w których obserwowano kanaliki nasieniowtwórcze, liczne komórki spermatogonialne oraz pojedyncze komórki w stadium profazy podziału mejotycznego (35).

Liczne przypadki chimeryzmu limfocyтарnego u owiec wykryte zostały w AR w Szczecinie (36) oraz w SGGW w Warszawie i PAN w Jastrzębcu (37), a także w AR w Krakowie (38). W badaniach wykonanych w PAN w Jastrzębcu (39) u tryków obarczonych chimeryzmem nie wykazano obniżenia płodności.

5. Aberracje chromosomowe u koni

Badania cytogenetyczne u koni rozpoczęto w Instytucie Zootechniki w roku 1998 — stąd jedynie 20 osobników objęto analizą kariotypu.

U jednej klaczy rasy Wielkopolska stwierdzono przypadek chimeryzmu komórkowego 64,XX/64,XY. Zewnętrzne narządy płciowe tego osobnika były rozwinięte jak u normalnej klaczy, jednak do zażrebień doszło dopiero w siódmym roku życia, po wielu nieskutecznych próbach inseminacji.

Przypadki aberracji chromosomów płciowych u koni zdiagnozowano w Instytucie Hodowli i Genetyki PAN w Jastrzębcu, w SGGW w Warszawie i AR w Krakowie. Najczęściej stwierdzano monosomię chromosomu płciowego X w formie czystej 63,X (40,41), względnie w postaci kariotypu mozaikowatego 63,X/64,XX (40). Zidentyfikowano również trisomię chromosomów płciowych 65,XXY (42) oraz chimeryzm komórkowy 64XX/64XY (40).

Z przedstawionych wyników analiz cytogenetycznych można wyciągnąć wniosek, że aberracje chromosomowe występują u wszystkich gatunków zwierząt gospodarskich. Równocześnie trudno jest ustalić częstość występowania poszczególnych nieprawidłowości kariotypu, ze względu na to, że grupy zwierząt objętych badaniami nie stanowiły populacji losowych. Można tylko zaobserwować tendencje gatunkowe odnośnie do nasilenia pewnych aberracji, np. translokacji robertsonowskich u bydła i wzajemnych u świń.

Z kolei w świetle wyników symulacji efektów ekonomicznych, wynikających z nosicielstwa aberracji chromosomowych oraz przy coraz szerzej wykorzystywanych metodach biotechnologicznych, analizy cytogenetyczne powinny być kontynuowane, szczególnie u osobników męskich, przeznaczonych do rozrodu.

Literatura

1. Gustavsson I., (1980), *Z. Tierzucht. Zuchtsbiol.*, 97, 176-195.
2. Popescu C. P., (1990), *Adv. Vet. Sci. Compt. Med.*, 34, 41-71.
3. Gustavsson I., (1990), *Adv. Vet. Sci. Compt. Med.*, 34, 73-107.
4. Long S. E., (1990), *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 34, 109-129.
5. Power M. M. (1990), *Chromosomes of the horse. Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 34, 131-167.
6. Świtoński M., (1992), *Med. Wet.*, 48, 131-134.
7. Jaszczak K., (1992), *Mat. Konf. „Genetyka 2000”*, streszcz., 163.
8. Popescu C. P., Bonneau M., Tixier M., Bahri I., Boscher J., (1984), *J. Hered.*, 75, 448-452.
9. Sysa P. S., Sławomirski J. W., Słota E., (1989), *Instrukcja Nr 1/89 Min. Rol. Leśn. i Gosp. Żywn. Dep Wet. z dn. 26. 05. 1989 r.*
10. Rejduch B., Słota E., Świtoński M., (1994), *Genet. Pol.*, 35, 323-332.
11. Słota E., Janicka-Mazur W., (1982), *Rocz. Nauk. Zoot.*, 9, 3-11.
12. Słota E., Danielak B., (1984), *Rocz. Nauk. Zoot.*, 11, 9-14.
13. Słota E., Danielak B., Kozubska A., (1988), *Proc. 8th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim.*, 122-124.
14. Słota E., Świtoński M., (1992), *Genet. Pol.*, 33, 227-231.
15. Danielak B., Kozubska-Sobocińska A., Słota E., Sławomirski J., (1988), *Rocz. Nauk. Zoot.*, 15, 7-14.
16. Słota E., Sysa P., Janicka-Mazur W., (1982), *Genet. Pol.*, 23, 249-255.
17. Sysa P. S., Słota E., (1985), *Rocz. Nauk. Zoot.*, 12, 41-49.
18. Rejduch B., Słota E., Kozubska-Sobocińska A., Jażdżewski J., Danielak-Czech B., (1998), *Roczn. Nauk. Zoot.*, 25, 20-28.
19. Jaszczak K., Parada R., Boryczko Z., Romanowicz K., Wijas B., (1988), *Genet. Pol.*, 29, 369-375.
20. Sysa P. S., Sławomirski J., Kuńska A., (1980), *Med. Wet.*, 36, 225-228.
21. Świtoński M., Lechniak D., Landzwojczak D., (1991), *Genet. Pol.*, 32, 227-233.
22. Dyrendahl I., Gustavsson I., (1979), *Hereditas*, 90, 281-289.
23. Sysa P. S., (1976), *Med. Wet.*, 32, 190-191.
24. Sysa P. S., (1998), *Mat. polsko-szwajcarskiego symp. „Zastosowanie metod genetyki molekularnej w programach hodowli zwierząt”*, 50-55.
25. Jędryczko R., (1995), *Cytogenetyka zwierząt gospodarskich — IV sympozjum, Warszawa.*
26. Gustavsson I., (1979), *J. Dairy Sci.*, 62, 825-835.
27. Danielak-Czech B., Słota E., Świtoński M., (1994), *Proc. 11th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim.*, 20-24.
28. Danielak-Czech B., Świtoński M., Słota E., (1997), *J. Anim. Breed. Genet.*, 114, 69-78.
29. Danielak-Czech B., Kozubska-Sobocińska A., Słota E., Rejduch B., Kwaczyńska A., (1996), *Arch. de Zootechnia*, 45, 215-219.
30. Danielak-Czech B., Kozubska-Sobocińska A. Słota E., Rejduch B., Okularczyk S., (1996), *J. Appl. Genet.*, 37, 373-384.
31. Świtoński M., Danielak-Czech B., Słota E., Sysa P., (1998), *Hereditas*, 128, 83-85.
32. Świtoński M., (1991), *Genet. Sel. Evol.*, 23, 181-189.
33. Sysa P. S., Pejsak Z., (1985-86), *Bull. Vet. Inst. Puławy*, 28-29, 109-118.
34. Słota E., Danielak B., Kozubska A., (1986), *Abstr. 7th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim.*, 37.
35. Sysa P. S., Słota E., Kieć W., (1996), *Proc. 12th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., Cytogenet. Cell Genet.*, 74, 242.
36. Szatkowska I., (1995), *Cytogenetyka zwierząt gospodarskich — IV symp., Warszawa.*
37. Sysa P. S., Jaszczak K., Słota E., Matuszewska M., Twardoń J., (1997), *Prace i Mat. Zootech., zesz. specj.*, 7, 63-64.
38. Kubień E., Murawski M., Wierzchoś E., (1993), *VII krajowa konf. cytogenet., Wrocław.*
39. Keszka J., Jaszczak K., (1998), *J. Appl. Genet.*, 39A, 137-138.
40. Parada R., Jaszczak K., Sysa P., Jaszczak J., (1996), *Prace i Mat. Zoot.*, 48, 71-81.

41. Sysa P. S., Trela M., Słota E., Jezierska A., Romanowicz K., (1989), II symp. cytogenet. zwierząt gosp., Poznań, 47-48.
42. Kubień E., Pozor M., Tischner M., (1991), Appl. Biol. Com., suppl. 1, 29.

Chromosomal aberrations diagnosed in farm animals under cytogenetic control at the National Research Institute of Animal Production

Summary

Cytogenetic studies, carried out between 1978–1998 at the National Research Institute of Animal Production resulted in identification of several chromosomal aberrations as follows: chromosomal chimerism XX/XY in cattle, sheep and horses, Robertsonian translocations and sex chromosome trisomy in cattle, reciprocal translocations in pigs and sheep, pericentric inversion in pigs.

The influence of Robertsonian and reciprocal translocations on fertility of aberration carriers was evaluated and economic losses in pigs due to decreased fertility were calculated.

In the light of these results it is advisable to continue cytogenetic control of farm animals in Poland, mainly males being used in reproduction.

Key words:

farm animals, chromosomal abnormalities, fertility, karyotype control.

Adres do korespondencji:

Ewa Słota, Zakład Immuno- i Cytogenetyki, Instytut Zootechniki, ul. Krakowska 1, 32-083 Balice.