

ANALIZA CYTOGENETYCZNA CIELĄT URODZONYCH
Z CIĄŻY BLIŹNIACZEJ I MNOGIEJ*Kazimierz Jaszcak, Rafał Parada*

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec

U bydła bardzo rzadko występuje ciąża mnoga, częściej natomiast spotykana jest ciąża bliźniacza. Tego rodzaju porody odbywają się z różną częstością u różnych ras. Najwięcej bliźniąt rodzi się u krów ras simentalskiej (4,5%), holsztyno-fryzyjskiej i charolaise [8]. Wśród rodzących się bliźniąt dizygotycznych około połowa jest różnopłciowa, zaś z ciąży mnogiej prawie wszystkie. Badania cytogenetyczne bliźniąt różnopłciowych wykazały, że u ponad 90% jałówek i byczków współbliźniaków występuje chimeryzm chromosomów płciowych w komórkach krwi. Stan ten jest wynikiem tworzenia się połączeń naczyń łożyskowych i wymiany komórek krwi w okresie płodowym. Jałówki z kariotypem 60,XX/60,XY, znane jako frymartynty, są zazwyczaj niepłodne. Różnie ocenia się natomiast płodność buhajów z chimeryzmem chromosomów płciowych i ich wykorzystanie w reprodukcji. Większość danych wskazuje, że buhaje z kariotypem 60,XY/60,XX mają często zaburzenia w spermatogenezie, dają nasienie gorszej jakości i wykazują ogólnie niższą płodność [10,2,3,11]. Celem prowadzonych badań była analiza cytogenetyczna cieląt urodzonych z ciąży mnogiej oraz bliźniaczej.

MATERIAŁ I METODA

Badaniami cytogenetycznymi objęto trojaczki (2 jałówki i 1 byczka), pięcioraczki (3 jałówki i 2 buhajki), 5 par bliźniąt różnopłciowych. Trojaczki i bliźnięta pochodziły od rodziców rasy nizinnej czarno-białej. Pięcioraczki urodzone zostały przez krowę rasy

nizinnej czarno-białej i po buhaju rasy simentalskiej. Matki badanych bliźniąt i pięcioraczków w poprzednich ciążyach rodziły pojedyncze cielęta. Matka trojaczek natomiast w pierwszej ciąży urodziła bliźnięta, a w drugiej trojaczki.

Krew do badań kariotypowych pobierano od cieląt jednorazowo w wieku 1-2 tygodni po urodzeniu, z wyjątkiem trojaczek, u których badania powtórzono w wieku 3 i 6 miesięcy. Kariotypy oceniano w limfocytach krwi obwodowej hodowanej *in vitro*. Hodowlę leukocytów i preparatykę chromosomów wykonywano wg ogólnie przyjętych zasad. Dla określenia kariotypu, jak i stosunku komórek z kariotypem 60,XX : 60,XY, analizowano w mikroskopie po 100 komórek od każdego badanego osobnika.

WYNIKI

U wszystkich badanych kariotypowo cieląt pięcioraczków stwierdzono występowanie chimeryzmu komórkowego 60,XX/60,XY. Procent komórek krwi z męskimi i żeńskimi chromosomami płci u poszczególnych cieląt podano w tabeli 1.

T a b e l a 1

Procentowy udział komórek krwi z kompletem chromosomów 60,XX i 60,XY u poszczególnych cieląt pięcioraczków

Nr cielęcia	Płeć	60,XX	60,XY
1	buhajek	18	82
2	buhajek	72	28
3	jałówka	95	5
4	jałówka	92	8
5	jałówka	6	94

U dwu cieląt (jałówki i buhajka) wystąpiła przewaga komórek z kompletem chromosomów 60,XY, czyli typu męskiego. U pozostałych trzech cieląt (2 jałówek i buhajka) dominowała populacja komórek żeńskich. W badaniach innych autorów stwierdzono także u pięcioraczków chimeryzm komórkowy, ale z dominacją tylko jednego typu komórek - z kompletem chromosomów 60,XY [9].

U trojaczków badania cytogenetyczne przeprowadzono w trzech okresach ich życia: 2 tygodnie, 3 i 6 miesięcy. Wyniki analizy cytogenetycznej zamieszczono w tabeli 2.

T a b e l a 2

Procentowy udział komórek krwi z kariotypem 60,XX i 60,XY u trojaczków w trzech okresach ich życia

Nr cielęcia	Płeć	2 tygodnie		3 miesiące		6 miesięcy	
		60,XX	60,XY	60,XX	60,XY	60,XX	60,XY
1	buhajek	96	4	95	5	100	0
2	jałówka	100	0	98	2	100	0
3	jałówka	90	10	92	8	98	2

U obu badanych jałówek i buhajka z trojaczków wystąpił chimeryzm komórek krwi z przewagą (90 do 100%) komórek z kariotypem żeńskim 60,XX, lecz u jednej jałówki stwierdzono chimeryzm XX/XY tylko w wieku 3 miesięcy, a w pozostałych dwu okresach życia kariotyp normalny. Wynik ten wskazywałyby na konieczność przeprowadzenia dwukrotnej analizy cytogenetycznej lub badania większej liczby komórek przy diagnozowaniu frymartynizmu u jałówek. Dunn i Johnson [4] przeprowadzając analizę statystyczną 70 frymartynów podają, że próba wielkości 168 komórek daje pewność wykrycia chromosomów Y w limfocytach tylko w 90%. W przypadku badanych trojaczków próba liczyła tylko 100 komórek.

Stwierdzić należy także, że proporcja komórek z kompletem chromosomów 60,XX : 60,XY u badanych trojaczków nie zmieniła się zasadniczo z wiekiem, co jest zgodne z wynikami innych autorów [7,5].

Wśród przebadanych kariotypowo pięciu par bliźniąt różnopłciowych tylko u jednej pary nie stwierdzono chimeryzmu XX/XY (tab. 3).

U analizowanych kariotypowo par bliźniąt z chimeryzmem XX/XY, podobnie jak u trojaczków, dominuje jeden rodzaj komórek, a tylko u pary (nr 4) stosunek XX:XY przedstawiał się jak 1:1. Przyczyna tej niesymetrycznej wymiany komórek między różnopłciowymi płodami nie jest znana. Przypuszcza się, że za stan ten odpowiedzialny jest stopień anastnoz naczyńniowych błon płodowych albo różnice w funkcjonowaniu serca w okresie płodowym [6].

T a b e l a 3

Procentowy układ komórek krwi z kariotypem 60,XX
i 60,XY u bliźniąt różnopłciowych

Para bliźniąt	Płeć	60,XX	60,XY
1	jałówka	100	0
	buhajek	0	100
2	jałówka	20	80
	buhajek	18	82
3	jałówka	60	40
	buhajek	57	43
4	jałówka	50	50
	buhajek	49	51
5	jałówka	79	21
	buhajek	68	32

Problem chimeryzmu XX/XY u bydła dosyć dokładnie został zbadany w przypadku jałówek, które już jako cielęta mogą być brakowane z hodowli na podstawie kariotypu. Nie wyjaśniona natomiast dostatecznie sprawa - to są skutki chimeryzmu u buhajków.

W dalszych pracach planowane są badania zdolności reprodukcyjnej buhaja z trojaczków, u którego prawie we wszystkich ocenianych komórkach stwierdzono kariotyp żeński, jak i buhajków z bliźniąt różnopłciowych.

PODSUMOWANIE

1. Analiza chromosomów w komórkach krwi cieląt pięcioraczków, trojaczków i 5 par bliźniąt różnopłciowych wykazała u wszystkich, z wyjątkiem 1 pary bliźniąt, chimeryzm komórkowy 60,XX/60,XY.

2. Wśród badanych cieląt pięcioraczków u 3 (2 jałówki i 1 buhajka) stwierdzono od 72 do 95% komórek z kariotypem, żeńskim, a u 2 pozostałych przewagę komórek męskich (82-94%). U trojaczków i bliźniąt dominował jeden typ komórek: u trojaczków tylko z chromosomami płci XX, a u pozostałych par bliźniąt komórki 60,XX lub 60,XY.

3. Proporcja komórek 60,XX:60,XY u trojaczków w trzech badanych okresach życia nie uległa większym zmianom.

4. Dalsze badania w tym zakresie powinny zmierzać w kierunku definitywnego określenia wpływu chimeryzmu XX/XY na płodność buhajów i ich wykorzystanie w reprodukcji.

PIŚMIENNICTWO

1. Cribiu E.P., Popescu C.P.: Proc. 2nd Eur. Colloq. Cytogenetics, Gissen, 1975.
2. Dunn H.O., Kenney R.M., Stone W.H., Bendel S.: Proc. 6th Int. Congr. Anim. Reprod. Paris 1968, 2.
3. Dunn H.O., McEntee K., Hall C.F., Johnson R.H., Stone W.H.: J. Reprod. Fert. 1979, 57.
4. Dunn H.O., Johnson R.H.: The Cornell Veterinarian 71, 1981.
5. Greene W.A., Dunn H.O., Foote R.H.: Cytogenet. Cell Genet. 1977, 18.
6. Kanagawa H., Kawata K., Ishikawa T.: Jap. J. Vet. Res. 1965, 13.
7. Kanagawa H., Kawata K., Ishikawa T., Inoue T.: Jap. J. Vet. Res. 1967, 15.
8. Ortovant R., Thibault C.: Anns. Biol. Anim. Bioch. Biophysique 10, suppl. 1970, 1, 1.
9. Parvathi K., Basrur D., Stoltz R.: Chromosoma (Berl), 1966, 19, 176-187.
10. Stafford M.J.: Vet. Rec. 1972, 90, 146.

K. Jaszczak, R. Parada

CYTOGENETIC ANALYSIS OF CALVES FROM TWINS AND MULTIPLES

S u m m a r y

Cytogenetic analysis was carried out in the calves of the quintuplets (3 females and 2 males), triplets (3 females and 1 male), 5 pair of heterosexual twins. Metaphase chromosomes derived from leucocyte cultures of peripheral blood were examined in all calves at 1-2 weeks of age and in calves of the triplets additionally at 12

and 24 weeks. All the animals cytologically examined, except for one pair of twins, exhibited, sex-chromosomal chimerism. In three calves of the quintuplets (2 females and 1 male) there were more cells the 60,XX type (72-95%) and in the two remaining calves (male and female), there were more cells of the 60,XY type (82-94%). In the calves of triplets and twins only one cell type dominated, either 60,XX or 60,XY. The proportion of male : female cells in bovine triplets did not change with age. In the discussion was suggested the necessity of fertility evaluation of chimeric bulls before their employment as reproducers.

К. Яшчак, Р. Парада

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТЕЛЯТ,
ПРОИСХОДЯЩИХ ИЗ ДВОЙНЫХ И МНОГОПЛОДНЫХ ВЕРЕМЕННОСТЕЙ

Р е з ю м е

Проведено цитогенетический анализ у телят 5-терых близнецов (3 телочки и 2 бычки), тройни (2 телочки и 1 бычок) и 5 пар разнополых близнецов. Хромосомы в стадии метафазы полученные из культур лейкоцитов периферической крови исследовано у всех телят в возрасте 1-2 недели и добавочно у тройни в 12 и 24 неделе жизни. У всех животных с исключением одной пары близнецов обнаружено химеризм половых хромосомов. У трех телят из пятерых близнецов (2 телочки и 1 бычок) проявилось численное превосходство женских клеток (72-95%), у дву остальных превосходство мужских клеток (82-94%). У тройни и близнецов доминировал только один тип клеток 60,XX или 60,XY. Пропорция мужских-женских клеток у тройни с возрастом не изменилась. В дискуссии рекомендуется плодовитость бычков с химеризмом перед направлением их к расплоду.