

ELŻBIETA KUBIEŃ, MACIEJ MURAWSKI\*, EDWARD WIERZCHOŚ\*

## Badania nad frymartynizmem u wysokopiennej owcy olkuskiej

Katedra Rozrodu Zwierząt, \*Katedra Hodowli Owiec i Kóz Wydziału Zootechnicznego AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Kubień E., Murawski M., Wierzchoś E.

### Study of freemartinism in high fecundity Olkuska sheep

#### Summary

The phenomenon of freemartinism continues to be a subject of research and interest to breeders due to economic losses resulting from sterility of females (of sheep and cattle) affected by leukocytic chimerism.

In high fecundity sheep breeds such as Romanowska or Booroola this phenomenon occurs more frequently than in other breed populations. In Romanowska sheep it is connected with the cumulative effect of different genes, but in Booroola with the presence of gene F (high fecundity).

Very little data is available in literature on freemartinism in the high fecundity Olkuska sheep which belongs to the breeds under threat of extinction. In view of high reproductive performance (early sexual maturity) and dairy production traits (high milk production) it seemed reasonable to undertake cytogenetic studies aimed at the determination of leukocytic chimerism related with freemartinism on a selected group of the Olkuska sheep. We examined a total of 40 animals of 13 chosen families with heterosexual litters. It was found that 2 out of 16 ewe-lambs were found to be freemartin cases (12.5%).

Frymartynizm u zwierząt jest znany od dawna, jednak w latach 90-tych obserwuje się znaczny rozwój badań związanych z tym zjawiskiem jako przyczyną bezpłodności samic. Wyniki badań podawane przez różnych autorów, a dotyczące frymartynizmu u owiec znacznie się różnią. Może się to wiązać z określoną rasą. Cribiu i wsp. (1) obserwował zwiększoną do 6,9% częstość tego zjawiska u wysokopiennej rasy booroola. Tendencje tej rasy do zwiększonej plenności i frymartynizmu potwierdziły też badania Keszka i wsp. (5). Podwyższony do 5% chimeryzm w leukocytach krwi obwodowej stwierdzono również u owiec rasy laine w toku badań przeprowadzonych na dużej populacji samic pochodzących z heteroseksualnych miotów (14). Natomiast w analizie kariotypowej 17 niepłodnych owiec rasy merynos polski wykryto tylko jeden przypadek owcy z mozaicyzmem XX/XY, pochodzącej z pary bliźniąt różnopłciowych (16).

Niniejsze badania u owcy olkuskiej miały na celu określenie skali występowania frymartynizmu u czysto rasowych zwierząt oraz ich krzyżówek w powiązaniu ze statusem genetycznym rodziców i potomstwa.

#### Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły maciorki i tryki z 13 rodzin rasy olkuskiej. U owiec należących do 11 rodzin przeprowadzono kompletną analizę cytogenetyczną rodziców i potomstwa z miotów różnopłciowych. W 2 rodzinach były to badania niepełne – w jednym przypadku zbadano tylko jagnięta trojaczki bez rodziców, a w drugim maciorkę z

różnopłciowego miotu bliźniaczego oraz ojca. Ogółem analizie cytogenetycznej i klinicznej poddano 40 zwierząt, w tym 3 mioty różnopłciowych trojaczek, 19 jagniąt z 10 par bliźniąt różnopłciowych oraz 7 matek i 5 ojców (tab. 1). Klinicznie oceniano budowę zewnętrznych, a laparoskopowo wewnętrznych narządów rozrodczych wszystkich samic.

W celu wykonania analizy cytogenetycznej, od każdego zwierzęcia pobierano sterylnie 5 ml krwi żyłnej i zakładało hodowlę leukocytów *in vitro* dla uzyskania podziałów mitotycznych. Następnie pod mikroskopem oceniano zestaw chromosomowy zwierząt – kariotyp na podstawie analizy 30-40 metafaz z każdego osobnika (3). W przypadku stwierdzenia chimeryzmu leukocytarnego analizowano 100 komórek w stadium metafazy celem obliczenia procentowego udziału linii komórkowych z układem heterochromosomów XX i XY. Wykonano też dokumentację fotograficzną w postaci kariogramów.

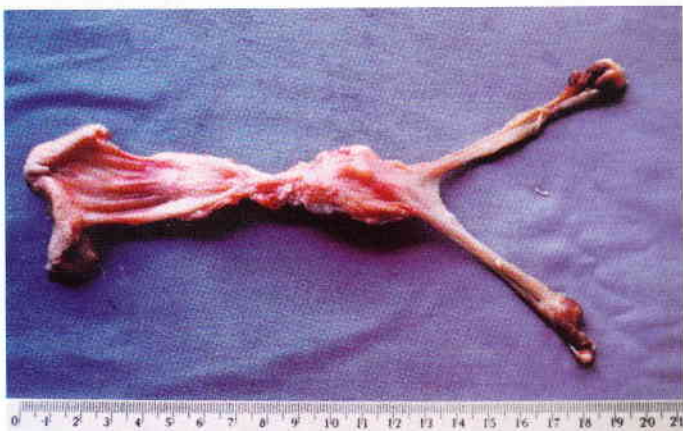
#### Wyniki i omówienie

W przebadanych 13 rodzinach owcy olkuskiej jeden trojaczy miot był zróżnicowany cytogenetycznie, gdyż jedna maciorka miała prawidłowy kariotyp 54,XX, a pozostałe płci żeńskiej i męskiej były chimerami leukocytarnymi – 54XX/54XY. Procentowy udział obu linii komórkowych wynosił: 62% i 38% dla maciorki i 63% i 37% dla tryczki. Spośród 10 bliźniaczych różnopłciowych miotów jedna owca miała kariotyp mozaikowy 54,XX/54,XY z liniami komórkowymi w stosunku 54%:46% (tab.1).

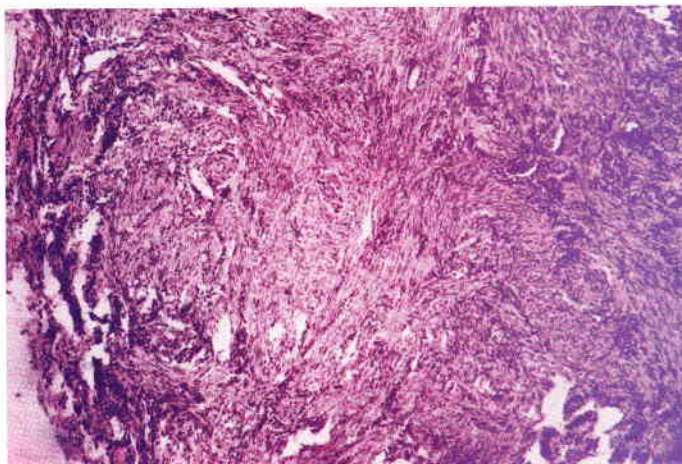
Tab. 1. Wyniki badań cytogenetycznych 13 różnopłciowych miotów owcy olkuskiej

Liczba miotów (n)		Kariotypy
Bliźniacze n = 10	n = 9	♀ 54, XX ♂ 54, XY
	n = 1	♀ 54, XX / 54, XY 54% / 46% ♂ niebadany
Trojacze n = 3	n = 2	♀ 54, XX ♀ 54, XX ♂ 54, XY
	n = 1	♀ 54, XX ♀ 54, XX / 54, XY 62% / 38% ♂ 54, XX / 54, XY 63% / 37%

Objaśnienia: kariotypy rodziców: 7 maciorek – 54,XX; 5 tryków – 54,XY; n – liczba miotów.



Ryc. 1. Narządy rozrodcze maciorki frymartyna



Ryc. 2. Histologiczny obraz gonady bez struktur pęcherzykowych i komórek jajowych (pow. 100x)

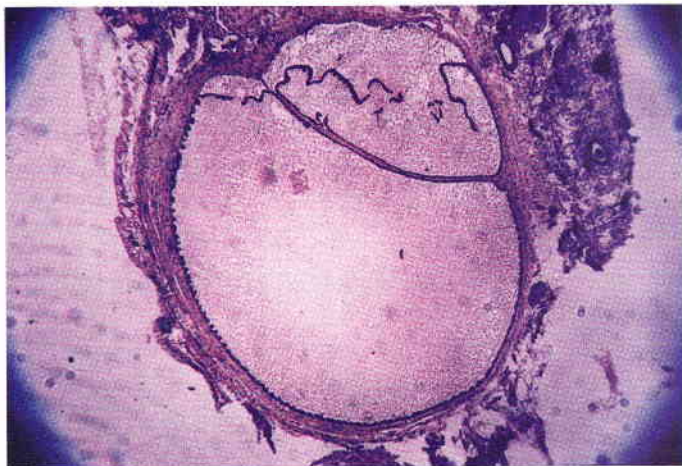
U rodzeństwa z miotu trojaczego z himeryzmem leukocytarnym, jedna maciorka o normalnym kariotypie i dobrze rozwiniętych narządach rozrodczych, dawała zdrowe potomstwo. Tryk mimo mozaicyzmu kariotypowego 54,XX/54,XY nie wykazywał zmian klinicznych i produkował prawidłowe nasienie. Owca-chimera leukocytarna była typowym frymartynem z brakiem macicy i dysgenezją gonad. Sekcyjne badanie tej owcy wykazało: słabo rozwiniętą łechtaczkę (ok. 3 mm dł.), przedsionek pochwy (dł. 3,5 cm) oraz ślepo zakończoną pochwę. Na długości 5 cm pochwa była połączona litym walcowatym tworem o średnicy 3 mm ze strukturą przypominającą więzadło szerokie macicy dochodzące do gonad. W rozwidleniu tej struktury zidentyfikowano dwie cysty, z których jedna wypełniona była przezroczystym płynem, a druga zawierała maźnistą treść. Jajniki położone w jamie brzusznej powiązane były gęstym spletem żylnym podobnym w budowie anatomicznej do spletu wiciowatego. Lewa gonada miała wymiary 7×3×2,5-3 mm, a prawa 5×3×3 mm (ryc. 1).

W histologicznym obrazie jajników podścielisko przypominało normalny obraz bez struktur pęcherzykowych i komórek jajowych z pojedynczymi torbielami inkluzyjnymi (ryc. 2 i 3). Bardzo wąskie, szczelinowate światło macicy miejscami rozwidlające się gałązkowato (ryc. 4), wysłane było wyłącznie jednorzędowym nabłonkiem gruczołowym. Stwierdzono też hipoplastyczną błonę mięśniową zbudowaną z nielicznych włókien mięśniowych (ryc. 5). Na podstawie obrazu histologicznego trudno określić czy widoczne na różnych poziomach światło macicy wykazuje ciągłość czy też są to przestrzenie oddzielone. Morfologiczny obraz przemawia za dysgenezją dróg rodnych owcy. Preparaty oceniane były w powiększeniach: 40×, 100×, 400× mikroskopu świetlnego Axioskop.

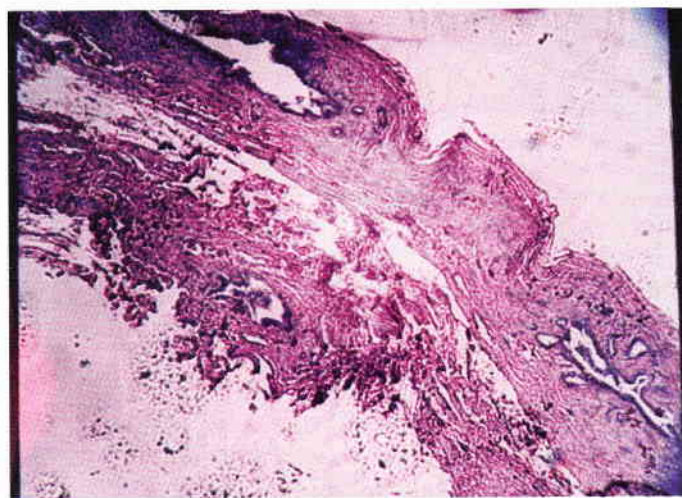
Laparoskopowe badanie maciorki frymartyna z bliźniaczego różnopłciowego miotu wykazały w narządach płciowych obecność tworów przypominających jądra, od których odchodziły cienkie, białowłókniste struktury łączące się w jedno pasmo ze ślepo zakończoną pochwą.

Opisane patologiczne zmiany w narządach rozrodczych maciorek frymartynów, znane z licznych doniesień literaturowych, prowadzą jednoznacznie do bezpłodności (4, 9, 11–13). Tryki zaś obciążone anomalią chimeryzmu leukocytarnego są płodne (5, 8, 15), chociaż niektórzy z autorów uważają, że zagadnienie to wymaga szerszego opracowania. U bydła natomiast istnieje indywidualna zmienność w płodności samców z tego typu anomalią (9).

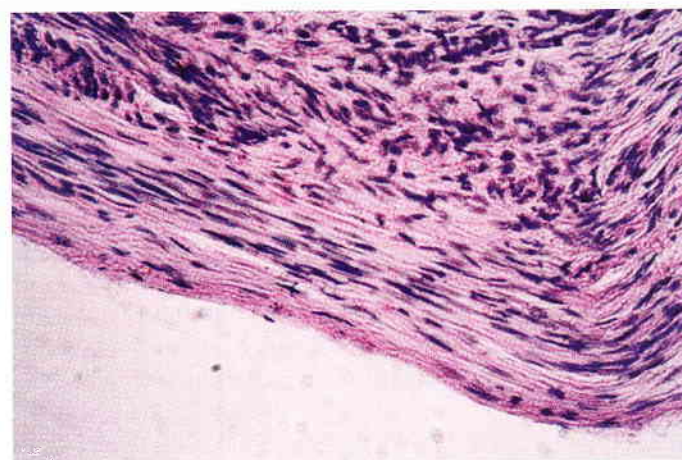
Procentowy udział poszczególnych linii komórkowych u owiec frymartynów nie ma wpływu na zmiany anatomiczne gonad, natomiast można zaobserwować korelację pomiędzy okresem fuzji naczyń u



Ryc. 3. Cysta inkluzyjna w jajniku (pow. 40×)



Ryc. 4. Przekrój przez „macicę”, widoczne gałązkowato rozwidlające się światło (pow. 40×)



Ryc. 5. Hypoplastyczna błona mięśniowa „macicy” (pow. 400×)

plodów różnopłciowych a stopniem maskulinizacji gruczołów płciowych (1, 16). Wydaje się również, że frymartynizm jest cechą gatunkową niezależną od czynników anatomicznych takich jak budowa łożyska. Specjalne predyspozycje do występowania tej anomalii posiadają dwa gatunki: owce i bydło (12, 13, 17,

18). Ostatnie badania Szatkowskiej i wsp. (15) sugerują genetyczne podłoże tworzenia się anastomoz, a tym samym frymartynizmu. Dlatego też w niniejszej pracy wydawało się celowym dokonanie analizy rodzin u owcy olkuskiej dla określenia częstości frymartynizmu oraz ustalenie przyczyny i charakteru tego zjawiska. Przebadanie 40 zwierząt (rodziców i potomstwa) z 13 wybranych rodzin z różnopłciowymi miotami pozwoliło wykryć wśród 16 urodzonych maciorek 2 przypadki frymartynizmu, co stanowi 12,5%. Przyczyną zwiększonej częstości frymartynizmu jest wysoka plenność maciorek takich ras jak cambridge, romanowska, booroola i olkuska. Dane piśmiennictwa wskazują na obecność u tych 2 ostatnich ras genu wysokiej plenności F (1, 6, 7, 10, 11). Cribiu i wsp. (1) sugerują obecność specyficznych morfologicznych markerów chromosomowych w kariotypie owiec rasy booroola (tzw. kruche miejsca podcentromerowe). Takie morfologiczne markery chromosomowe mogłyby być też znacznikiem dla genetycznych powiązań z genem F. Podobne wyniki uzyskano w badaniach kariotypowych u owiec rasy olkuskiej przeprowadzonych jednak na nielicznych miotach (2). Dla potwierdzenia zatem powyższych sugestii konieczna jest analiza cytogenetyczna dużej populacji zwierząt pochodzących z corocznych wykotów w danym stadzie. Ze względu na fakt, że owca olkuska należy do ras ginących, tego typu badania są niezbędne dla rekonstrukcji stada i prowadzenia pracy hodowlanej oraz zapewnienia rezerwy genetycznej istniejących jeszcze w Polsce zwierząt tej rasy.

### Piśmiennictwo

1. Cribiu E. P., Durand V., Saget O.: Second Inter. Workshop on Major Genes for Reproduction in sheep. INRA, Paris 1991, s. 305.
2. Derlatka S.: Markery chromosomowe w kariotypie owcy olkuskiej. Praca mgr, Wydział Zootechniczny AR Kraków, 1995.
3. ISCNDA International System of Cytogenetic Nomenclature of Domestic Animals. Cytogen. Cell Genet. 53, 65, 1990.
4. Jaszczak K., Gabryszuk M., Jaszczak J., Klewicz C.: VIII Kraj. Konf. Cytogenet. (streszczenie) Wrocław 1993.
5. Keszka J., Jaszczak K.: J. Appl. Genet. 37, 367, 1996.
6. Knothe A.: Owczarstwo 9, 19, 1986.
7. Knothe A., Wierchoś E.: 12-th Inter. Congr. Anim. Reprod. The Hague, 1992.
8. Kubień E., Murawski M., Wierchoś E.: VIII Kraj. Konf. Cytogenet. (streszczenie) Wrocław 1993.
9. Long S. E.: J. Appl. Genet. 38, 65, 1997.
10. Martyniuk E.: Owczarstwo 7, 8, 1988.
11. Martyniuk E., Radomska J.: Second Inter. Workshop on Major Genes for Reproduction in sheep. INRA, Paris, 1991, s. 85.
12. McFeely R. A.: Domestic Animal Cytogenetics. Acad. Press nc., N. Y., London 1990.
13. Rejduch B., Słota E.: Medycyna Wet. 53, 330, 1997.
14. Szatkowska I.: J. Appl. Genet. 36, 373, 1995.
15. Szatkowska I., Switoński M.: Hereditas 124, 107, 1996.
16. Szatkowska I., Udala J., Chomiczewska-Mazaraki A.: Medycyna Wet. 49, 365, 1993.
17. Switoński M.: Medycyna Wet. 3, 131, 1992.
18. Wierchoś A.: Badania cytogenetyczne u wybranych rodzin owcy rasy olkuskiej. Praca mgr, Wydział Zootechniczny AR, Kraków, 1997.

Adres autora: dr Elżbieta Kubień, os. Sienkiewicza 5/20, 32-020 Wieliczka