Zasadność systematycznej oceny kariotypu bydła kwalifikowanego do rozrodu

ANNA KOZUBSKA-SOBOCIŃSKA, BARBARA DANIELAK-CZECH

Dział Genomiki i Biologii Molekularnej Zwierząt, Instytut Zootechniki – Państwowy Instytut Badawczy,
ul. Krakowska 1, 32-083 Balice

Otrzymano 16.02.2017

Zaakceptowano 04.04.2017

Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B.

Legitimacy of systematic karyotype evaluation of cattle qualified for reproduction

Summary

Cytogenetic studies enable the identification and early elimination from breeding of animals affected by hereditary karyotype defects. These defects cause developmental disorders and a significant decrease of fertility parameters (from a few dozen to 100%) and productivity of breeding herds, and consequently measurable financial losses. Due to the potential possibility of spontaneous occurrence of chromosomal aberrations and rapid spreading of these genetic defects in the population, especially in the conditions of the use of artificial insemination, it is necessary to carry out regular karyotype control of breeding animals. Cytogenetic monitoring of cattle qualified for reproduction guarantees the systematic identification of all karyotype abnormalities carriers, which, causing the decrease of fertility or sterility, determine the low reproductive performance of animals affected by these defects. The cytogenetic control system, implemented by the use of constantly perfected cytomolecular techniques, enables a very precise, reliable evaluation of karyotype and diagnosis of chromosomal abnormalities, as well as formulation of specific recommendations for culling.

Keywords: cattle, fertility, karyotype abnormalities, cytogenetic control system

Diagnostyka cytogenetyczna umożliwia identyfikację i wczesną eliminację z hodowli zwierząt obciążonych dziedzicznymi wadami kariotypu, powodującymi zaburzenia rozwoju oraz znaczące obniżenie wskaźników płodności (od kilkudziesięciu do 100%) i produktywności stad hodowlanych, a w konsekwencji wymierne straty finansowe. Ze względu na potencjalną możliwość spontanicznego pojawiania się aberracji chromosomowych i szybkiego rozprzestrzeniania się tych wad genetycznych w populacji, zwłaszcza w warunkach stosowania sztucznej inseminacji, konieczna jest systematyczna kontrola kariotypu zwierząt hodowlanych, a szczególnie materiału zarodowego gatunków o istotnym znaczeniu ekonomicznym. Monitoring cytogenetyczny osobników kwalifikowanych do rozrodu gwarantuje systematyczną identyfikację wszystkich nosicieli nieprawidłowości kariotypu, które powodując obniżenie płodności lub niepłodność, przesądzają o niskiej przydatności rozplodowej zwierząt hodowlanych obciążonych tymi wadami (8, 35, 37). System kontroli cytogenetycznej realizowany przy wykorzystaniu stale doskonalonych technik cytogenetycznych, wzbogaconych elementami genetyki molekularnej, pozwala na bardzo precyzyjną i wiarygodną ocenę kariotypu oraz

diagnozę nieprawidłowości chromosomowych, a także sformułowanie konkretnych zaleceń selekcyjnych.

Cytogenetyczne badania przesiewowe dają możliwość wybrakowania nosicieli aberracji chromosomowych często charakteryzujących się normalnym eksterierem czy – w przypadku samców – prawidłowymi parametrami nasienia. Warto zaznaczyć, że ogólne koszty systemu kontroli prawidłowości kariotypu (przy jednostkowej cenie analizy ok. 120 zł) są znacznie niższe niż straty finansowe związane z użytkowaniem w stacjach inseminacji rozplodników – nosicieli aberracji.

W ostatnich latach dla warunków polskiej hodowli nie przeprowadzono kalkulacji dotyczących strat ekonomicznych powodowanych występowaniem w stadach nosicieli wad kariotypu. Najbardziej aktualne oszacowanie skutków obecności w hodowli osobników z aberracjami chromosomowymi opracowano w 2008 r. dla bydła hodowanego we Francji (9). W sytuacji, gdy populacje buhajów inseminacyjnych nie są objęte monitoringiem cytogenetycznym, to niewykryci nosiciele użytkowani w rozrodzie przekazują aberrację na tysiące sztuk potomstwa. Przy takim tempie rozprzestrzeniania wad kariotypu, nawet przy

nieznacznym obniżeniu płodności spowodowanym rearanżacją, konsekwencje ekonomiczne mogą być bardzo istotne i znacznie poważniejsze niż globalne koszty programu przesiewowych badań prawidłowości kariotypu. W kalkulacji tej stwierdzono, że całkowite koszty badań cytogenetycznych wszystkich potomków uzyskanych po jednym buhaju ze stacji inseminacji wynoszą 40 tys. euro, podczas gdy cena przeprowadzenia pojedynczej analizy jest niższa niż 100 euro. Zdaniem autora, taka dysproporcja kosztów powinna być poważnym argumentem dla związków hodowców w krajach UE, przemawiającym za koniecznością prowadzenia badań przesiewowych, zwłaszcza w aspekcie płodności, która staje się jednym z głównych czynników limitujących wydajność ekonomiczną stad, co znalazło odzwierciedlenie w programach hodowlanych wielu ras bydła (9).

Dziedziczne strukturalne rearanżacje chromosomowe w populacji bydła

Identyfikacja i profilaktyka wad kariotypu umożliwiają poprawę użyteczności rozplodowej w stadach zarodowych zwierząt gospodarskich, poprzez selekcję opartą na diagnozowaniu młodych osobników, przed ich wykorzystaniem w rozrodzie i wczesnej eliminacji zwierząt dotkniętych aberracjami chromosomowymi. Sugestie dotyczące nie dopuszczenia do rozrodu nosicieli wad genetycznych są zgodne z zaleceniami Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi w zakresie szczególnych warunków weterynaryjnych wymaganych przy prowadzeniu produkcji, pozyskiwaniu, konserwacji, obróbce, przechowywaniu, wprowadzaniu do obrotu lub wykorzystaniu materiału biologicznego (Rozporządzenie MRiRW z dnia 11 marca 2003 r. Dz. U. 03. 61. 542).

Wieloletnie badania kilkutysięcznej populacji bydła wykazały, że najczęstszą mutacją chromosomową są fuzje centryczne zwane translokacjami Robertsonowskimi, które powstają w wyniku pęknięcia dwóch chromosomów akrocentrycznych w okolicy centromeru, a następnie nieprawidłowej naprawy tego uszkodzenia, prowadzącej do utworzenia dużego, dwuramiennego chromosomu i utraty małych okołocentromerowych fragmentów (5, 22, 29).

U bydła zdiagnozowano ponad 60 różnych translokacji Robertsonowskich, występujących z różną częstością u wielu rasach, zarówno prymitywnych, jak i szlachetnych (głównie o użyteczności mięsnej), z częstością aż 60% w populacjach bydła korsykańskiego i british white (22). Nosiciele translokacji Robertsonowskich mają prawidłowy fenotyp. W większości badań u osobników obarczonych fuzjami centrycznymi odnotowano obniżenie płodności wyrażające się u buhajów niższym wskaźnikiem niepowtarzalności rui, natomiast u krów wydłużonym okresem międzywycieleniowym (1, 2, 35, 37). Badania przebiegu mejozy u nosicieli translokacji Robertsonowskich

ujawniły w stadium pachytenu I podziału meiotycznego tworzenie się triwalentu złożonego z chromosomu translokowanego oraz dwóch chromosomów z par zaangażowanych w translokację. Triwalent zazwyczaj prawidłowo segreguje, czego efektem jest powstawanie dwóch rodzajów gamet: z prawidłową liczbą chromosomów ($n = 30$) oraz zawierających chromosom translokowany ($n = 29$) (28, 42, 44). Nieprawidłowa segregacja zachodzi rzadko i dotyczy kilku procent komórek dzielących się meiotycznie, a jej efektem jest powstawanie aneuploidalnych gamet (około 2,76% niezbalansowanych plemników i 4,6% niezbalansowanych oocytów), które po zapłodnieniu odpowiadają za powstawanie aneuploidalnych zarodków zamierających we wczesnym okresie rozwoju embrionalnego, co prowadzi do niewielkiego obniżenia płodności na poziomie około 5-10% (15, 22).

Najczęściej diagnozowaną w populacji bydła fuzją centryczną jest translokacja Robertsonowska 1;29. Pierwsze jej przypadki zarejestrowano w populacji szwedzkiego bydła czerwono-białego, a kolejne translokacje 1;29 diagnozowano u bydła ras włoskich: chianina i piemontese oraz francuskich: blonde d'Aquitaine, charolaise, limousine (22). W Polsce fuzję centryczną 1;29 diagnozowano w populacji bydła rasy charolaise, u potomstwa trzech buhajów rasy blonde d'Aquitaine, a także u osobników ras: nizinnej czarno-białej, nizinnej czerwono-białej i polskiej czerwonej (9, 37). Oprócz fuzji 1;29 w polskiej populacji bydła zidentyfikowano dwie inne translokacje Robertsonowskie. W pierwszą, zdiagnozowaną u pięcioraczków rasy czerwono-białej, zaangażowane były chromosomy z par 13 i 24, natomiast drugą – dicentryczną, dotyczącą chromosomów z pary 5 i 22, opisano u buhajka rasy czerwono-białej (9, 22).

Inną kategorię aberracji strukturalnych stanowią, rzadziej identyfikowane u bydła, translokacje wzajemne, będące również powodem obniżenia płodności rzędu kilku do kilkudziesięciu procent, związanego z zaburzeniami gametogenezy i produkcją aneuploidalnych komórek rozrodczych (40, 42). Translokacje wzajemne powstają w wyniku pęknięcia dwóch lub więcej różnych chromosomów i wzajemnej wymiany fragmentów chromosomowych, na skutek nieprawidłowej naprawy tych pęknięć. Mutacje te nie powodują zmiany liczby chromosomów, lecz zmieniają ich morfologię, są dziedziczne, a część przypadków powstaje *de novo* (6, 7, 34). Dotychczas opisano około dwudziestu tego typu rearanżacji u fenotypowo normalnych osobników, z których dwie: $t(2;4)(q45;q34)$ oraz $t(Y;21)(p11;q11)$, zdiagnozowano w Polsce u buhajów inseminacyjnych ras ayrshire i hf (40, 43). Częstość występowania translokacji wzajemnych u tego gatunku oszacowano na poziomie 0,03% (23).

Odmiernym typem strukturalnej rearanżacji kariotypu są występujące z dość niską częstością (kilkanaście opisanych dotąd aberracji) inwersje peri- i paracen-

tryczne, zachodzące w obrębie jednego chromosomu i polegające na odwróceniu o 180° fragmentu powstałego w wyniku dwóch pęknięć chromatyd. Jeśli odwrócony fragment obejmuje centromer, jak ma to miejsce w przypadku inwersji pericentrycznej, zwykle dochodzi do zmiany morfologii chromosomu, natomiast inwersja paracentryczna nie powoduje takich modyfikacji. O efektach inwersji decyduje głównie wielkość inwertowanego odcinka oraz jego położenie względem centromeru w chromosomie. W trakcie podziałów meiotycznych może dojść do niezrównoważenia informacji genetycznej i niesymetrycznej segregacji, wyrażającej się nieznacznym obniżeniem płodności (na poziomie kilku procent) lub incydentalnie bezpłodnością (41, 42).

Wśród nielicznych przypadków inwersji u bydła na uwagę zasługują dwie inwersje pericentryczne autosomu 14. pary i heterosomu X, zdiagnozowane u fenotypowo normalnych krów o obniżonej płodności (22) oraz przypadek inwersji pericentrycznej chromosomy Y u bezpłodnego buhajka rasy podolskiej, z wyraźnymi cechami fenotypu samiczego, atrofią penisa i brakiem jąder (12).

Chromosomowe aberracje liczbowe – aneuploidie

Wśród aberracji dotyczących liczby chromosomów istotną pozycję zajmują aneuploidie polegające na braku lub pojawieniu się dodatkowego chromosomu w kariotypie nosiciela (trisomia lub monosomia). Anomalie te powstają na skutek zaburzeń przebiegu mejozy typu *non disjunctio* u jednego z rodziców, powodując tworzenie gamet z nadliczbowymi chromosomami lub z ich brakiem (44). Nosicielstwo aneuploidii autosomalnych wiąże się zwykle z wyraźnym niedorozwojem oraz występowaniem licznych, widocznych wad anatomicznych, co jest bezpośrednim powodem eliminacji takich zwierząt z dalszej hodowli. Z kolei aneuploidie chromosomów płci są z reguły przyczyną wad rozwojowych układu rozrodczego i bezpłodności (1, 2).

Dotychczas stwierdzono kilkadziesiąt przypadków nosicieli syndromu XXY, których kariotyp wyrażony był trisomią prostą, chimeryzmem lub mozaiką, zawsze jednak z udziałem linii XXY. Spośród kilku przypadków zdiagnozowanych w Polsce, u trzech buhajków z zespołem XXY aberracja wystąpiła w postaci prostej, natomiast u czwartego przybrała formę chimeryzmu 60,XX/61,XXY (20, 36). U buhajów z trisomią XXY (w różnych formach jej występowania) stwierdzano hipoplazję jąder, różny stopień degeneracji kanalików plemnikotwórczych, azoospermie lub oligospermie, w większości przypadków brak spermatogenezy, obniżone libido, czasem słabszy rozwój somatyczny i nieznaczną feminizację ciała. Tylko w opisie jednego przypadku buhaja o kariotypie 60,XY/61,XXY/59,XO zarejestrowano prawidłowy przebieg spermatogenezy (44).

Kolejną trisomię, dotyczącą także heterosomów, zidentyfikowano u buhajka rasy HF o kariotypie w formie mozaiki 60,XY/61,XXY, a konsekwencje tej anomalii wyrażały się hipoplazją jąder oraz dysfunkcją ich aktywności endokrynologicznej (21).

Należy podkreślić, że aberracje dotyczące liczby chromosomów mają niewielkie konsekwencje ekonomiczne, gdyż w bardzo znacznym stopniu ograniczają płodność lub powodują bezpłodność nosicieli, co zapobiega rozprzestrzenianiu się tych mutacji w stadach hodowlanych.

Nieprawidłowość kariotypu 60,XX/60,XY – chimeryzm leukocytny

Inną kategorię wad kariotypu, najczęściej spotykaną u bydła, stanowi chimeryzm leukocytny XX/XY. Polega on na występowaniu we krwi jednego osobnika dwóch populacji komórek o kariotypie męskim i żeńskim. Pojawia się u bliźniąt różnopłciowych i jest wynikiem tworzenia się wspólnego krwiobiegu poprzez anastomozy, czyli połączenia naczyń między błonami płodowymi współbliźniaków. Zjawisko cięż mnogich u bydła dotyczy niespełna 2% urodzeń, natomiast anastomozy rozwijają się u około 98% bliźniąt (10, 31).

Na podstawie wieloletnich badań prowadzonych u bydła przyjmuje się, że 82-95% jałówek pochodzących z ciąży bliźniaczych różnopłciowych to nosicielki chimeryzmu leukocytnego i związanego z nim frymartyzmu. Jałowość samic o kariotypie 60,XX/60,XY spowodowana jest rozległymi zmianami patologicznymi układu rozrodczego. Zewnętrzne narządy płciowe w większości przypadków są typowo samicze, natomiast obserwowane zmiany to: powiększona łechtaczka, mała, często ślepo zakończona pochwa, hypo-, a nawet aplastyczna macica. Hypoplastyczne, czasem zmaskulinizowane gonady zawierają struktury jajnikowo-jądrowe, a w nielicznych przypadkach struktury przypominające nowotwór rozwijający się w jednowarstwowym nabłonku (18, 25, 33). Należy dodać, że u jałówek o kariotypie 60,XX/60,XY wielkość procentowego udziału linii komórkowej XY, zapożyczonych od męskiego współbliźniaka, nie determinuje stopnia maskulinizacji narządów rozrodczych frymartyki (13, 24, 26). Na uwagę zasługuje także fakt, że niejednokrotnie w badaniach cytogenetycznych diagnozuje się również przypadki wystąpienia chimeryzmu komórkowego u jałówek rejestrowanych w dokumentacji hodowlanej jako pochodzące z pojedynczych urodzeń, w sytuacji gdy dochodzi do obumarcia męskiego współbliźniaka we wczesnym okresie płodowym (10, 38).

Z kolei wpływ obecności osobników żeńskich w okresie rozwoju zarodkowego na późniejszą przydatność rozplodową samców pochodzących z bliźniąt lub wieloraczek różnej płci jest przedmiotem wielu dyskusji i analiz (14, 16). Liczne badania bliźniąt

bydlęcych wykazały, że na ogół buhaje z chimeryzmem leukocytarnym 60,XX/60,XY charakteryzują się parametrami płodności, jakości nasienia i jego przydatności do mrożenia, nie odbiegającymi od ogólnie przyjętych norm i w związku z tym takie buhajki można warunkowo dopuścić do rozrodu. Z drugiej strony, szereg innych doniesień sugeruje obniżenie wskaźników płodności takich buhajów, z uwzględnieniem wskaźnika niepowtarzalności rui i parametrów nasienia (15). Ocena jakości nasienia, prowadzona w oparciu o badania ejakulatów uzyskanych od buhajów o kariotypie 60,XX/60,XY, ujawniła istotne lub wysoko istotne obniżenie objętości ejakulatu, ruchliwości i koncentracji plemników, wyższy procent plemników uszkodzonych (wady morfologiczne główne i podrzędne) oraz większą częstość występowania zmian degeneracyjnych w strukturze jąder, niekiedy azoospermie i słabe libido (30).

Ocena prawidłowości kariotypu bydła

Przesiewowe badania cytogenetyczne populacji bydła, prowadzone od kilkunastu lat w wielu krajach europejskich, początkowo obejmowały liczne rasy mleczne i mięsne, koncentrując się głównie na identyfikacji wad kariotypu, a szczególnie szeroko rozprzestrzenionej translokacji 1;29 i eliminacji z hodowli ich nosicieli. Obecnie systematyczne analizy kariotypu (obligatoryjne w przypadku eksportu materiału zarodowego) dotyczą w większości ras, które nie są jeszcze wolne od tej aberracji, czyli bydła mięsnego i wielu ras lokalnych. W badaniach uwzględnia się wszystkie młode buhaje inseminacyjne przed ich zakwalifikowaniem do rozrodu (90-93%) (z pominięciem buhajów uczestniczących w kryciu naturalnym) i tylko nieliczne osobniki żeńskie spokrewnione z nosicielami tej wady (7-10%) (9).

Niewiele jest aktualnych danych charakteryzujących poszczególne rasy bydła pod względem częstości występowania nieprawidłowości kariotypu, przy czym podkreślić należy, że są to zazwyczaj wyniki monitoringu niewielkich, często niereprezentatywnych populacji (23). Najwięcej informacji dostarczył raport z realizacji funkcjonujących w Europie programów kontroli prawidłowości kariotypu, w którym określono częstość występowania translokacji 1;29 u ras: blonde d'Aquitaine (7,9%), limousin (12,3%) i charolaise (1,2%), z tendencją spadkową w okresie kilkunastu ostatnich lat (z 18% do 8% w przypadku blonde d'Aquitaine). Warto dodać, że całkowita eliminacja tej wady kariotypu była niemożliwa, gdyż buhaje kryjące naturalnie nie były objęte obligatoryjną kontrolą kariotypu (około 50% kojarzeń jest efektem krycia naturalnego), a żeński materiał zarodowy w ogóle nie podlegał ocenie cytogenetycznej. Z kolei, częstość translokacji 1;29 w badanych populacjach bydła hodowanego w Europie Środkowej kształtowała

się średnio na poziomie 7,5%, w tym u rasy chianina – 1,4%, marchigiana – 11,7%, romagnola – 13,0%, maremmana – 18,8%, podolskiej – 11,7%, a w rasach: fryzyjskiej, bruna, grey alpine, mucca pisana i ottonese w zakresie 0,7%-3,5%. W efekcie monitoringu zachodnioeuropejskich populacji kolejnych 39 ras bydła mięsnego i mlecznego wykazano, że średnia częstość występowania translokacji 1;29 wynosi 5,01%, przy najwyższej frekwencji u lokalnych ras retina (16,1%), rubia gallega (21,9%) i cachena (57,1%). Stwierdzono także, że translokacja ta nie występuje już u bydła holsztyńsko-fryzyjskiego, co dowodzi skuteczności funkcjonowania programu kontroli prawidłowości kariotypu. Wysoką frekwencję tej aberracji zarejestrowano również u komercyjnych portugalskich ras bydła (alentejana, maronesa, mirandesa), z częstością sięgającą aż 70% u rasy barrosa. W populacjach bydła pochodzących z Europy Wschodniej translokacja 1;29 występuje przeciętnie z częstością 0,65%, w tym u ras: romanian spotted – 0,8%, romanian black spotted – 0,7%, brown – 0,4%, simmental – 3,0%, charolaise – od 0,4 do 4,1%, hungarian grey – 4,8% i aż 13,3% u blonde d'Aquitaine (9, 35, 37).

Podane wyżej częstości translokacji 1;29 wynikają z oceny prawidłowości kariotypu na podstawie analizy chromosomów barwionych konwencjonalnie, która nie daje możliwości identyfikacji aberracji strukturalnych wyrażających się niewielkimi zmianami morfologicznymi chromosomów. Szacuje się jednak, że częstość pojawiających się *de novo* translokacji Robertsonowskich (z wyjątkiem szeroko rozprzestrzenionej i utrwalonej w niektórych populacjach translokacji 1;29) i translokacji wzajemnych (znacząco redukujących płodność, a rejestrowanych dotąd bardzo rzadko) może wynosić aż 0,14%, ale ich identyfikacja wymaga bardziej precyzyjnej diagnostyki z wykorzystaniem technik barwienia różnicowego chromosomów (23, 45).

Wyniki badań cytogenetycznych bydła kwalifikowanego do rozrodu przedstawiane są w formie ekspertyz prawidłowości kariotypu, uwzględniających ustaloną formułę kariotypową, obraz analizowanych chromosomów metafazowych, a w przypadku nosicieli wad kariotypu także precyzyjne wskazania i zalecenia selekcyjne dotyczące przydatności do rozrodu (39). Obecnie coraz szersze zastosowanie w diagnostyce cytogenetycznej znajdują badania molekularne techniką hybrydyzacji *in situ* (FISH) (17, 19, 32). Metoda ta może być wykorzystana zarówno w analizach chromosomowych mutacji strukturalnych i liczbowych oraz lokalizacji genów, jak i identyfikacji chromosomów w komórkach somatycznych i rozrodczych oraz w obserwacjach przebiegu mejozy w mikroskopie fluorescencyjnym (3, 4, 11, 27).

Wprowadzenie nowoczesnych technik cytomolekularnych do badań prawidłowości kariotypu umożli-

liwiło zwiększenie dotychczasowych możliwości diagnostycznych w zakresie określenia skutków nosicielstwa wad chromosomowych. Liczba diagnozowanych aberracji chromosomowych u zwierząt hodowlanych potwierdza efektywność systemu kontroli prawidłowości kariotypu samców inseminacyjnych, uzasadniając potrzebę kontynuacji i intensyfikacji cytogenetycznych badań przesiewowych buhajów, ze szczególnym uwzględnieniem młodych zwierząt przed ich użytkowaniem w rozrodzie.

Piśmiennictwo

- Basrur P. K., Stranzinger G.: Veterinary cytogenetics: past and perspective. *Cytogenet. Genome Res.* 2008, 120, 11-25.
- Citek J., Rubes J., Hajkova J.: Short communication: Robertsonian translocation, chimerism, and aneuploidy in cattle. *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 3481-3483.
- Danielak-Czech B., Kozubska-Sobocińska A., Bąk A.: FISH-based comparative mapping of the Hsp27 gene on chromosomes of the domestic Bovids. *Chromosome Res.* 2014, 22, 414-414.
- Danielak-Czech B., Kozubska-Sobocińska A., Kruczek K.: Chromosomal assignment of the small heat protein genes in the sheep genome. *Chromosome Res.* 2014, 22, 412-413.
- Danielak-Czech B., Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B.: Diagnosis of tandem fusion translocation in the boar using FISH technique with human painting probes. *Ann. Anim. Sci.* 2010, 10, 361-366.
- Danielak-Czech B., Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B.: Molecular cytogenetics in the diagnostics of balanced chromosome mutations in the pig (*Sus scrofa*) – a review. *Ann. Anim. Sci.* 2016, 16, 679-699.
- Danielak-Czech B., Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A.: Identification of telomeric sequences in pigs with rearranged karyotype using PRINS technique. *Ann. Anim. Sci.* 2013, 13, 495-502.
- Danielak-Czech B., Słota E.: Karyotype control system of AI boars in Poland: the current survey. *Ann. Anim. Sci.* 2008, 8, 255-262.
- Ducos A., Revay T., Kovacs A., Hidas A., Pinton A., Bonnet-Garnier A., Molteni L., Słota E., Świtoński M., Arruga M. V., van Haeringen W. A., Nicolae I., Chaves R., Guedes-Pinto H., Andersson M., Iannuzzi L.: Cytogenetic screening of livestock populations in Europe: an overview. *Cytogenet. Genome Res.* 2008, 120, 26-41.
- Esteves A., Bage R., Payan-Carreira R.: Freemartinism in cattle, [w:] Mendes E. D. (ed.): *Ruminants: anatomy, behaviour and diseases*. New York, USA, Nova Science Publishers 2012, s. 99-120.
- Iannuzzi L., Di Berardino D.: Tools of the trade: diagnostics and research in domestic animal cytogenetics. *J. Appl. Genet.* 2008, 49, 357-366.
- Iannuzzi L., Di Meo G. P., Perucatti A., Eggen A., Incarnato D., Sarubbi F., Cribiu E.: A pericentric inversion in the cattle Y chromosome. *Anim. Cytogenet. Genet.* 2001, 94, 202-205.
- Komisarek J., Dorynek Z.: Genetic aspects of twinning cattle. *J. Appl. Genet.* 2002, 43, 55-68.
- Kozubska-Sobocińska A., Bugno-Poniewierska M., Słota E.: Application of bovine heterosome painting probes to analysis of the bivalent in rams. *Ann. Anim. Sci.* 2009, 9, 373-378.
- Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B., Rejduch B.: Cytogenetic and molecular diagnostics of XX/XY chimerism in cattle, sheep, and goats – a review. *Ann. Anim. Sci.* 2016, 16, 989-1005.
- Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B.: Identification of heterosomes in spermatozoa of rams with 54,XX/54,XY chimerism. *Vet. Med.-Czech.* 2008, 53, 250-254.
- Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B., Danielak-Czech B., Babicz M., Bąk A.: Comparative sex chromosomes hybridizations in Ruminantia. *Ann. Anim. Sci.* 2012, 12, 497-502.
- Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B., Słota E., Sysa P. S.: New aspects of degenerative changes in reproductive system of freemartin heifers. *Ann. Anim. Sci.* 2011, 11, 229-239.
- Kozubska-Sobocińska A., Słota E., Pieńkowska A.: The application of FISH technique for diagnosing leukocyte chimerism in sheep (in Polish). *Med. Weter.* 2003, 59, 987-989.
- Krumrych W.: Overview of the cytogenetic evaluation of young bulls bred in the north-western part of Poland in 1999-2008. *Bull. Vet. Inst. Puław* 2009, 669-672.
- Krumrych W., Jaśkowski J. M., Gehrke M., Zbylut J.: First case of 61,YYY-trisomy in bull in Poland – initial observations. *Bull. Vet. Inst. Puław* 2002, 46, 307-315.
- Larkin D. M., Farré M.: Cytogenetics and chromosome maps, [w:] Garrick D. J., Ruvinsky A. (eds): *The genetics of cattle*. 2, CAB International Wallingford 2015, s. 103-129.
- Lorenzi De L., Morando P., Planas J., Zannotti M., Molteni L., Parma P.: Reciprocal translocations in cattle: frequency estimation. *J. Anim. Breed. Genet.* 2012, 129, 409-416.
- Nowacka J., Świtoński M., Mackowski M., Słota E., Radko A., Ząbek T., Urbaniak K.: The use of cytogenetic and molecular techniques reveals ambiguity of the freemartinism diagnosis in cattle. *Czech J. Anim. Sci.* 2004, 49, 239-243.
- Peretti V., Ciotola F., Albarella S., Paciello O., Dario C., Barbieri V., Iannuzzi L.: XX/XY chimerism in cattle: Clinical and cytogenetic studies. *Sex Dev.* 2008, 2, 24-30.
- Padula A. M.: The freemartin syndrome: an update. *Anim. Reprod. Sci.* 2005, 87, 93-109.
- Rejduch B., Danielak-Czech B., Kozubska-Sobocińska A.: FISH-based comparative analysis of human and porcine chromosome region involving obesity-related genes. *Ann. Anim. Sci.* 2010, 10, 367-372.
- Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A.: Use of FISH technique to study the meiosis process in bulls (in Polish). *Med. Weter.* 2006, 62, 1, 96-98.
- Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B.: Use of human painting probes for identification of centric fusion in wild boar. *Chromosome Res.* 2010, 18, 728-729.
- Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B., Babicz M.: Semen quality evaluation of young bulls carrying leukocyte chimerism 60,XX/60,XY. *Ann. UMCS, sect. EE, Zootechnica* 2011, XXIX, 47-53.
- Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A., Radko A., Rychlik T., Słota E.: The application of genetic markers for cell chimerism diagnosis in lambs. *J. Anim. Breed. Genet.* 2004, 121, 197-203.
- Rubeš J., Pinton A., Bonnet-Garnier A., Fillon V., Musilova P., Michalova K., Kubickova S., Ducos A., Yerle M.: Fluorescence in situ hybridization applied to domestic animal cytogenetics. *Cytogenet. Genome Res.* 2009, 126, 34-48.
- Rychlik T., Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B., Sikora J.: The phenomenon of cell chimerism in goats. *Vet. Med.-Czech.* 2005, 50, 311-314.
- Słota E., Danielak-Czech B., Pietraszewska J., Kozubska-Sobocińska A.: Preliminary identification of the fragile X in two crossbred cows. *Vet. Med.-Czech.* 2000, 45, 308-310.
- Słota E., Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B., Rejduch B., Kowol P., Żyga A.: A note on cytogenetic monitoring of Polish Red cattle. *J. Anim. Feed Sci.* 2004, 13, 65-71.
- Słota E., Kozubska-Sobocińska A., Kościelny M., Danielak-Czech B., Rejduch B.: Detection of the XXY trisomy in a bull by using sex chromosome painting probes. *J. Appl. Genet.* 2003, 44, 379-382.
- Słota E., Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B.: 1;29 Robertsonian translocation in cattle diagnosed at the National Research Institute of Animal Production in Poland. *Cytogenet. Genome Res.* 2004, 106, 26.
- Szczerbal I., Kociucka B., Nowacka-Woszek J., Lach Z., Jaśkowski J. M., Świtoński M.: A high incidence of leukocyte chimerism (60,XX/60,XY) in single born heifers culled due to underdevelopment of internal reproductive tracts. *Czech J. Anim. Sci.* 2014, 59, 445-449.
- Sysa P. S., Słota E.: The investigation of karyotype in cattle within the new system of cytogenetic control of bulls in Poland. *Proc. 10th Europ. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., Utrecht* 1992, s. 248-249.
- Świtoński M., Andersson M., Nowacka-Woszek J., Szczerbal I., Sosnowski J., Kopp C., Cernohorska H., Rubes J.: Identification of a new reciprocal translocation in an AI bull by synaptonemal complex analysis, followed by chromosome painting. *Cytogenet. Genome Res.* 2008, 121, 245-248.
- Świtoński M., Danielak-Czech B., Słota E., Sysa P.: Lack of pairing loop formation in synaptonemal complex preparation of a boar carrying an inversion. *Hereditas* 1998, 128, 83-85.
- Świtoński M., Stranzinger G.: Studies of synaptonemal complexes in farm mammals – a review. *J. Hered.* 1998, 89, 473-480.
- Świtoński M., Szczerbal I., Krumrych W., Nowacka-Woszek J.: A case of Y-autosome reciprocal translocation in a Holstein-Friesian bull. *Cytogenet. Genome Res.* 2011, 132, 22-25.
- Villagómez D. A. F., Pinton A.: Chromosomal abnormalities, meiotic behaviour and fertility in domestic animals. *Cytogenet. Genome Res.* 2008, 120, 69-80.
- Yimer N., Rosnina Y.: Chromosomal anomalies and infertility in farm animals: a review. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* 2014, 37, 1-18.

Adres autora: dr hab. Anna Kozubska-Sobocińska, prof. IZ PIB, ul. Krakowska 1, 32-083 Balice; e-mail: anna.sobocinska@izoo.krakow.pl