

nich spowodowanych niepłodnością do około 800—1200 zł rocznie na krowę. Nie jest to wielka pozycja w sumie ogólnych strat spowodowanych przez błędy żywienia, nie jest to wielka kwota w przeliczeniu na jedną krowę, jednakże w przeliczeniu na oborę stanowi już pozycję poważniejszą, a w przeliczeniu na wszystkie krowy będące we władaniu państwowych gospodarstwach, oznacza możliwość uzyskania 500 milionów zł dodatkowego dochodu.

## Piśmiennictwo

1. Jaśkowski L.: Co daje hodowli sztuczne unasienianie. PWRL, 1962.
2. Jaśkowski L.: Pol. Arch. wet. 14(2) w druku.
3. Jaśkowski L.: Synowiedzki Z.: Pol. Arch. wet. 14(2) w druku.
4. Jaśkowski L.: Zesz. Probl. Post. Nauk. roln. 124 (w druku).
5. Juszcak J., Szulc T., Szykowski L.: Medycyna wet. 23, 735, 1969.
6. Milk Marketing Board Report. 18, 102, 1968.
7. Rice V. K., Andrews F. N., Warwick E. J., Legatee J. E.: Breeding and Improvement of Farm Animals. McGraw-Hill. N.Y. 1957.
8. Studencov A. P.: Veterinarija, Moskva. 4, 76, 1965.
9. Woj. Stacja Oceny Zwierz. Bydgoszcz.: Wyniki oceny mlecznej krow w r. 1969.

Adres autora: prof. dr Lech Jaśkowski, Bydgoszcz, ul. Świerczewskiego 35.

Яськовски Л., Глиньска А. — Попутка определения экономического ущерба вызванного бесплодием коров в крупных хозяйствах.

Исследованиям подвергли две очередные лактации после удлиненного сервис периода у 3046 коров. Установили, что удлинение сервис периода выше 75 (77) дней, вызывает в следующем году понижение молочной продуктивности у старших коров на 0,18% и у коров с 1—2 отелами — на 0,28% за каждый день удлинения сервис периода. Этот ущерб составляет только 50% непосредственного ущерба, возникающего на почве яловости коровы. Дополнительные потери вызывают прежде — временная браковка коров (по причине их яловости), а также понижение количества телят.

Jaśkowski L., Glińska A. — Estimation of economic losses caused by infertility of cows kept in large state farms.

In order to estimate the direct economic losses caused by infertility in cows, a comparison of 2 consecutive lactations (the second being after prolonged calving interval) in 3046 cows was done. It was found that prolongation of the service period above 77 days caused a decrease of yearly milk yield on the following year by 0.18% in older cows, and by 0.28% in animals after the 1-st and 2-nd parturition for each day of prolonged service period. These are only 50% of direct losses caused by infertility. Additional losses are caused by precocious culling of cows due to infertility, and by decrease of the number of calves born.

STANISŁAW RAUŁUSZKIEWICZ, JADWIGA HARAŻNA, PAWEŁ SYSA, HENRYK HÜBNER

## Identyfikowanie chromosomu Y w komórkach interfazalnych zwierząt domowych

Instytut Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynarii WSR we Wrocławiu

Kierownik Kliniki Położniczej: prof. dr A. SENZE

Instytut Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynarii SGGW w Warszawie  
Dyrektor: prof. dr J. MAZURCZAK

Katedra Histologii i Embriologii WAM w Łodzi

Kierownik: doc. dr med. L. CIECIURA

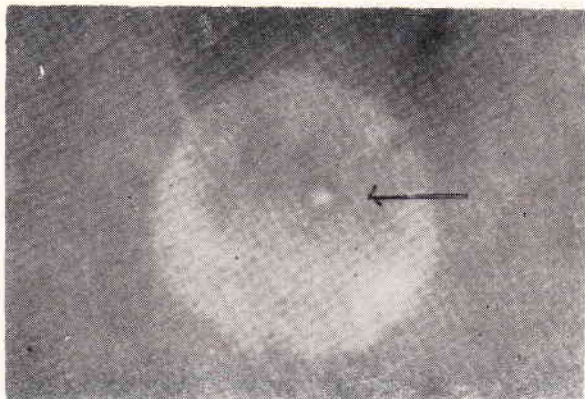
Rozwijająca się hodowla wielkostadna wymaga zastosowania nowych metod diagnostycznych zaburzeń rozwojowych w tym szczególnie układu rozrodczego. Badania chromosomalne oparte o analizę płytek metafazalnych są pracochłonne, wymagają specjalistycznych pracowników i z tego względu mogą być stosowane jedynie w wyselekcjonowanych przypadkach.

Dotychczas duże usługi oddała prosta metoda oznaczania liczby chromosomów X, na podstawie analizy ilości ciałek Barra (2, 3, 9, 10, 11). W roku 1970 wprowadzono do cytogenetyki nową metodę identyfikowania chromosomu Y w komórkach interfazalnych, najczęściej pochodzących z nabłonka jamy ustnej.

Teoretyczne podstawy tej metody polegają na wbudowaniu się atebryny, lub niektórych jej pochodnych do miejsc heterochromatynowych chromosomów, a szczególnie chromosomu Y (1, 5, 6, 7). Związaną atebrynę wykrywa się przy pomocy mikroskopu fluorescencyjnego. Zastosowanie tej metody w medycynie wykazało, że w pewnej ilości nie dzielących się komórek pochodzących od mężczyzn obserwuje się we flu-

orescencji silnie świecące ciało. Doświadczenia wykonane przez Zech (15), Georgea (5) wykazały, że fluoryzujące ciało odpowiada chromosomowi Y. Obecność w komórce nadliczbowych chromosomów Y, powoduje, że świecą w niej dodatkowe ciała (3, 6). W niektórych komórkach spotyka się dwudzielną strukturę fluoryzującego chromosomu Y. W tych przypadkach intensywność świecenia obu blisko siebie leżących części jest mniejsza niż pojedynczego ciała (6, 13).

Wiązanie się atebryny w miejscach heterochromatynowych chromosomów wydaje się być pewną regułą ogólnobiologiczną, o czym świadczą doświadczenia wykonane na materiale roślinnym (3). Pozwalało to wysnuć przypuszczenia, że za pomocą tej nowej metody można również identyfikować interfazalny chromosom Y w komórkach zwierzęcych. Celem obecnej pracy było odróżnienie płci zwierząt na podstawie analizy interfazalnych komórek wybarwionych atebryną i ocenianych w mikroskopie fluorescencyjnym.



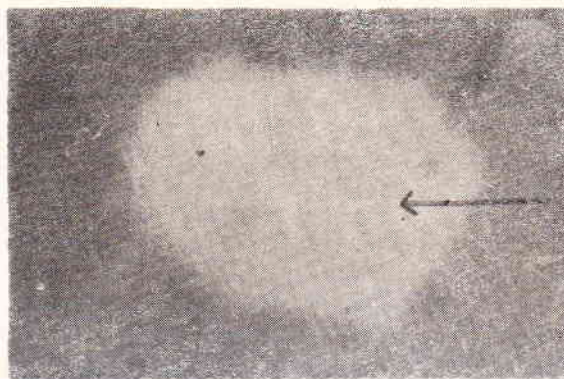
Ryc. 1. Pojedyncze silnie fluoryzujące ciałko w jądrze komórki spojówki oka buhaja. Pow. mikroskopowe  $\times 640$ .

Materiał i metody

Badania przeprowadzono u zwierząt, które dobrano uwzględniając występowanie znacznych różnic w liczbie chromosomów i ich wyglądzie (tab. 1). Komórki nabłonkowe pobierano ze spojówek oka u bydła, koni, świń, psów i z wargi górnej u psa, metodą opisaną (11). Rozmazy utrwalano w alkoholu  $95^\circ$  minimum 20 minut. Pobrany materiał podzielono na dwie grupy. W grupie I rozmazy barwiono przed upływem od pobrania dwu godzin, a w grupie II po upływie dwu dni. Postępowanie to miało na celu ocenę wpływu czasu przechowywania rozmazów na wykrywalność chromosomu Y. W przeciwieństwie do poprzednich technik wprowadzono stałe buforowanie buforem McIlvaine'a alkoholi i barwnika. Wprowadzając dodatkowo przed barwieniem płukanie preparatów w szeregu alkoholowym, po 4 minuty w alkoholach o stężeniach: alkohol absolutny,  $95^\circ$ ,  $70^\circ$ ,  $50^\circ$ . Zarówno rozcieńczenia alkoholi, jak i barwników przygotowywano w roztworze buforu cytrynianowego McIlvaine'a. W celu obserwacji wpływu pH na proces barwienia stosowano do rozcieńczeń buforu o pH 3,0, pH 4,2, pH 5,5 i pH 7,0. Preparaty po przeprowadzeniu przez szereg alkoholowy płukano w buforze, a następnie barwiono w czasie 20 min. w 0,5% roztworze atebryny. Po zabarwieniu preparaty czterokrotnie płukano w buforze. Osuszone preparaty zamykano w buforze z gliceryną w stosunku 1:1 zalewając brzegi parafiną. Preparaty oceniano w mikroskopie fluorescencyjnym przy zastosowaniu lampy rtęciowej HBO 200. Preparaty oceniano w dwu partiach: bezpośrednio po zabarwieniu oraz następnego dnia. Oceny dokonywały niezależnie od siebie trzy osoby. Wszystkie rozmazy przed przystąpieniem do ich barwienia zostały zakodowane przez osobę nie biorącą udziału w badaniach.

Wyniki

Zauważono, że preparaty świeżo pobrane i zabarwione 0,5% atebryną, były jakościowo lepsze od tych, które barwiono po upływie dwu dni. Różnice te np. u byka były tak dalekie, że po dwu dniach nieobserwowano prawie wcale fluoryzującego chromosomu Y. Przeprowadzenie przez szereg alkoholi rozcieńczonych buforem cytrynianowym McIlvaine'a wpłynęło bardzo korzystnie na czystość preparatu, mało było widocznych artefaktów. Przekonano się, że z podanych czterech wartości pH najsilniejsze świecenie wykazały preparaty barwione przy pH 4,2. Podane poniżej wartości odnoszą się do obserwacji preparatów sporządzanych przy pH 4,2 (tab. 2). Część komórek pobranych od zwie-



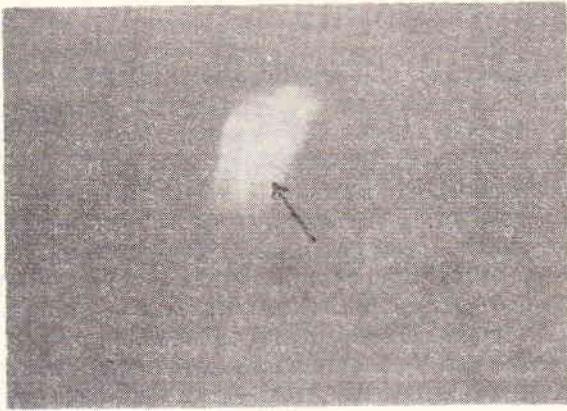
Ryc. 2. Pojedyncze silnie fluoryzujące ciałko w jądrze komórki spojówki oka świni. Pow. mikroskopowe  $\times 640$ .

rzęć płci męskiej różniła się od komórek nabłonkowych pobranych od samic, obecnością w jądrze pojedynczego silnie fluoryzującego ciała. Powyższe nie odnosi się do badanych psów u których nie obserwowano fluoryzującego ciała, które wielkością odpowiadało by ciałkom występującym u samców pozostałych gatunków. U samców bydła i świń obserwowano w niektórych komórkach występowanie nieco słabszej fluorescencji dwu mniejszych ciałek blisko siebie położonych. U przebadanych samców nie zauważono występowania dwu silnie fluoryzujących ciałek. W komórkach bydła i świń niezależnie od płci oraz u psów płci męskiej obserwowano obecność w jądrze drobnych fluory-

Tab. 1. Zestawienie badanych zwierząt i charakterystyka ich kariotypu

Gatunek	Płeć	Ilość bad. zwierząt	Charakterystyka garnituru chromosomalnego			
			2 n	autosomy	X	Y
Konie	♂	2	64	26 (M, Sm) 36 (A, T)	Sm	A — najmniejszy chromosom w kariotypie
		2				
Bydło	♂	4	60	58 (A, T)	Sm	Sm — wielkości najmniejszych autosomów
		2				
Świnie	♂	2	38	24 (M, Sm) 12 (A, T)	Sm	M — najmniejszy w kariotypie
		2				
Psy	♂	2	78	76 (A, T)	Sm	M — najdrobniejszy (minutowy)

M — metacentryczny; Sm — submetacentryczny; — akrocentryczny; T — telocentryczny.



Ryc. 3. Dwudzielne ciało średnio fluoryzujące z jądra komórki nabłonka spojówki z oka buhaja. Pow. mikroskopowe  $\times 640$ .

zujących ciałek. Wymiary tych ciałek były znacznie mniejsze niż obserwowane w komórkach pochodzących od osobników męskich bydła i świń obserwowano występowanie obu rodzajów fluoryzujących struktur tj. dużych i małych. Psy płci męskiej wykazywały w niektórych swoich komórkach obecność pojedynczego, małego, fluoryzującego ciała. U koni nie uzyskano wystarczających dowodów występowania tego rodzaju fluoryzujących punktów.

Zaobserwowano, że fluorescencję opisanych struktur daje się wywołać przez pewien określony krótki czas od momentu zabarwienia atebryną (parę godzin) w temperaturze pokojowej.

Tab. 2. Wyniki badań

Gatunek	Płeć	Ciała fluoryzujące			
		Pojedyncze silnie świecące	Dwudzielne średnio świecące	Podwójne silnie świecące	Drobnodziarniste
Konie	♂	+	?	—	?
	♀	—	—	—	?
Bydło	♂	+	+	—	+
	♀	—	—	—	+
Świnie	♂	+	+	—	+
	♀	—	—	—	+
Psy	♂	?	—	—	+
	♀	—	—	—	—

### Omówienie wyników

Przy zastosowaniu opisanej metody badań udało się odróżnić komórki pochodzące od samców i samic. Przy rozszyfrowaniu preparatów okazało się, że popełniono jedną pomyłkę w określeniu płci psa. W przypadku źle rozpoznanych preparatów, za wynik dodatni przyjęto niespecyficzną fluorescencję całych jąder. Pomyłka ta była tym bardziej możliwa, że u psów nie obserwowano w ogóle pojedynczego fluoryzującego ciała o wielkości obserwowanych u samców pozostałych gatunków. Na podstawie wyników podanych przez innych autorów (5, 6, 12, 13, 14, 15) można przyjąć, że wykryte u samców koni, bydła i świń pojedyncze silnie fluoryzujące ciało odpowiada chromosomowi Y w komórce interfazalnej. Sądzimy, że nie-

wykrycie takiego ciała fluoryzującego u psa jest związane z tym, że chromosom Y w kariotypie tego gatunku, ma niezwykle małe wymiary (4, 7, 12). Pomiedzy samcem i samicą tego gatunku zaobserwowano jednak różnicę występowania drobnoziarnistej fluorescencji (tab. 2. poz. 4). Jest prawdopodobne, że mały chromosom Y psa uwidacznia się w komórce interfazalnej pod postacią mniejszego niż u innych zwierząt fluoryzującego punktu. Zasługuje na podkreślenie obserwacja, że u samców bydła i świń wykryto dwudzielną strukturę fluoryzującego interfazalnego chromosomu Y. Takie struktury opisano u człowieka (6, 13) u którego chromosom Y ma odmienny wygląd. Przedyskutowania wymagają również fluoryzujące drobne ziarnistości obserwowane u bydła i świń niezależnie od płci. Ich występowanie w komórkach pochodzących od samic oraz występowanie u samców niezależnie od fluoryzującego chromosomu Y dowodzi, że nie są to struktury związane z męskim chromosomem płciowym. Można przypuszczać, że są to fluoryzujące heterochromatyczne odcinki chromosomów autosomów.

Wyniki przeprowadzonych badań wymagają dalszych uzupełnień. Zachęcają one do stosowania nowej metody cytogenetycznej w diagnostyce weterynaryjnej.

### Piśmiennictwo

1. Artykuł redakcyjny: In pursuit of the chromosome. *Nature*, 226, 897, 1970.
2. Barr M. L., Carr D. H.: *Acta Cytol.* 6, 34, 1962.
3. Caspersson T., Ech L., Modest E. J., Foley G. H., Wagh U., Simonsson E.: *Exp. Cell Res.* 58, 128, 1959.
4. Ford L.: *Mammalian Chromosomes Newsletter*, 19, 3, 1966.
5. George K. P.: *Nature*, 226, 80, 1970.
6. Hübner H., Roszkowska-Giryń I.: *Pol. Tyg. Lek.* — w druku.
7. Hsu T. C., Benirschke K.: *An Atlas of Mammalian Chromosomes*. Vol. 1, 1967, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1967.
8. Lyon M. F.: *Amer. J. hum. Genet.* 14, 135, 1962.
9. Moore K. L.: *The Sex Chromatin*. W. B. Saunders Comp. London, 1966.
10. Osuchowska Z., Sumiński E.: *Zeszyty Prob. Nauk Rol.* 11, 47, 1958.
11. Raułuszkiewicz S., Senze A., Elezow G.: *Zeszyty Nauk. WSR, Wrocław, Weterynaria* 83, 95, 1969.
12. Reiter M. B., Gilmore V. H., Jones T. C.: *Mammalian Chromosome Newsletter* 19, 3, 1963.
13. Pearson P. L., Bobrow M., Vosa C. G.: *Nature*, 225, 78, 1970.
14. Vosa C. G.: *Chromosoma (Berl.)* 30, 366, 1970.
15. Zech L.: *Exp. Cell Res.* 58, 63, 1969.

Adres autora: dr Stanisław Raułuszkiewicz, Wrocław, Plac Grunwaldzki 49, Klinika Położnicza Wydziału Weterynarii WSR.

Раулушкевич С., Харазьна Я., Сыса П., Хибнер Х. — Идентификация хромозома У в интерфазальных клетках домашних животных.

Исследования провели на животных учитывая у них количество и вид хромозома. В окрашенных атебрином мазках соединительной оболочки глаз лошадей, крупного рогатого скота и свиней а также верхней губы собак хромозом Y идентифицировали в интерфазальных клетках при помощи флюоресцентного микроскопа. В препаратах от крупного рогатого скота, свиней и лошадей (фиксированных в 95% этаноле и окрашенных 0,5% атебрином — 20 мин.) наблюдали интенсивно флуоризирующий хромозом Y. Ввели постоянное буферирование спиртов и краски буферами различного pH по Mc Ilvain. Самое сильное свечение флуоре-

цирующих тел наблюдали при pH=4,2. У самцов крупного рогатого скота и свиней структура интерфазального хромосома Y состояла из двух частей. У самцов собак в некоторых клетках наблюдали присутствие единичного очень маленького флуоризирующего тельца. Установили тоже что флуоресценцию хромосома Y можно вызвать через определенное короткое время нескольких часов от момента окраски атебрином в комнатной температуре. Результаты исследований указывают на целесообразность применения этого нового цитогенетического метода в диагностике плодовитости животных.

Raufszkiewicz S., Haraźna J., Sysa P., Hübner H. — **The identification of Y chromosome in interphasic cells of domestic animals.**

The examinations were carried out on animals which were chosen in dependence on the number of chromosomes and their appearances. Chromosome Y

was identified in smears of interphasic cells taken from the conjunctiva and upper lip of horses, pigs, cattle and dogs. The smears were stained with atebriane and examined by fluorescence microscope. In smears taken from cattle, pigs and horses fixed in 95° alcohol and stained with 0,5% solution of atebriane for 20 min, chromosome Y showed strong fluorescence. Alcohols and stains were always buffered by McIlvain's buffer of a different pH. The strongest fluorescence of fluorescent bodies was obtained at pH 4.2. In male cattle and pigs there was observed a dual structure of the fluorescent interphasic chromosome Y. In male dogs there were observed only in some cells small single fluorescent bodies. It was found that fluorescence of the chromosome Y could be obtained for a defined period of time (several hours) at a room temperature since the moment of staining with atebriane. The obtained results encourage to apply the new cytogenetic technique for the diagnosis of fertility in animals.

## CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ANTONI SPRYSZAK, CEZARIUSZ ZÓRAWSKI

### Wpływ dokażeń prątkami gruźlicy ptasiej na wyniki tuberkulinizacji porównawczej krów gruźliczych

Pracownia Immunologii Gruźlicy Instytutu Weterynarii w Puławach  
Kierownik: prof. dr A. SPRYSZAK

Zakażenia bydła prątkami gruźlicy ptasiej są częstą przyczyną nieswoistego uczulenia tych zwierząt na tuberkulinę ssaków. Stwierdzili to liczni badacze w różnych krajach (1—6).

Nasze własne badania na rodzimym materiale potwierdziły to zjawisko (7, 8). W jednej z prac (10) wykazano, że zastosowanie standardyzowanej tuberkuliny ptasiej w porównawczym teście tuberkulinowym pozwala w wysokim stopniu właściwie określić czy zwierzę reaguje na tuberkulinę ssaków swoiście czy nieswoiście. Zaproponowany klucz oceny wyników tuberkulinizacji porównawczej stał się obowiązujący (12). Odczyn na tuberkulinę ptasią pozwala — według tego klucza — ocenić wynik tuberkulinizacji jako ujemny względnie wątpliwy. Czy w każdym przypadku jest to słuszne? — Podjęto badania dla sprawdzenia czy intensywne zakażenie prątkami gruźlicy ptasiej może zamaskować u bydła swoiste zakażenie gruźlicze.

#### Materiał i metody

Doświadczenie przeprowadzono na 27 krowach izolatora gruźliczego w gospodarstwie M. Zwierzęta podzielono na dwie grupy. Grupa I stanowiło 17 krów, które sztucznie zakażono prątkami gruźlicy ptasiej. Osiem zwierząt otrzymało podskórnie po 5 mg prątków standardowego szczepu *Myc. avium* D<sub>3</sub>, a 9 zwierząt — taką samą ilość prątków szczepu terenowego *Myc. avium* TB, wyizolowanego od kury. Grupę II stanowiło 10 krów kontrolnych. Przed zakażeniem zwierząt grupy I wszystkie krowy poddano tuberkulinizacji porównawczej. Wyniki oceniono według obowiązującego klucza (12). W grupie I na tuberkulinę ssaków reagowało 16 krów, z których 9 reagowało również na tuberkulinę ptasią. Wynik tuberkulinizacji

porównawczej był dodatni u 12 krów, wątpliwy u czterech, a jedna krowa (nr 472) nie reagowała na żadną tuberkulinę.

W grupie II (kontrolnej) na tuberkulinę ssaków reagowało 9 krów, z których 6 reagowało również na tuberkulinę ptasią. Wynik tuberkulinizacji porównawczej był dodatni u 8 krów, wątpliwy u jednej, a jedna krowa (nr 474) nie reagowała na żadną tuberkulinę. Wszystkie krowy objęte doświadczeniem poddano następnie 4-krotnej tuberkulinizacji porównawczej w odstępach 8-tygodniowych. Po trzecim badaniu tuberkulinowym trzy krowy dokażone i dwie krowy kontrolne poddano ubojowi i badaniu sekcijnemu. Do badań tuberkulinowych użyto tuberkuliny ssaków i ptasiej produkcji Puławskich Zakładów Przemysłu Bioweterynaryjnego, stosując dawki i technikę tuberkulinizacji według obowiązujących przepisów (12).

#### Wyniki

Odczyny na tuberkulinę ssaków i ptasią u krów grupy I dokażonych szczepem standardowym *M. avium* D<sub>4</sub> oraz szczepem terenowym *M. avium* TB były podobne.

W pierwszym badaniu po dokażeniu wynik tuberkulinizacji porównawczej był dodatni u 4 zwierząt a u 13 był wątpliwy. Analogiczne wyniki testu porównawczego uzyskano w następnym badaniu. Trzecia tuberkulinizacja porównawcza po dokażeniu wykazała 5 wyników dodatnich, a czwarta — 7.

Średnia reakcji na tuberkulinę ptasią u 17 krów grupy I wynosiła przed dokażeniem 4,1 mm, a 8 tygodni po dokażeniu — 15 mm. W trzech dalszych badaniach, przeprowadzonych w 8-tyg. odstępach, średnia wielkość odczynów