

DOROTA LECHNIAK

artykuł przeglądowy

Anomalie chromosomowe przyczyną zamierania gamet i zarodków zwierząt

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań

Zjawisko obumierania zarodków we wczesnych, przedimplantacyjnych stadiach rozwojowych obserwowane jest często u zwierząt i pociąga za sobą wymierne straty ekonomiczne. Anomalie chromosomowe stanowią jedną z najczęściej obserwowanych przyczyn zamierania zarodków (22, 24). Najlepiej i najszerzej udokumentowane badania w tym zakresie zostały do tej pory przeprowadzone na ludzkich oocytach i zarodkach, które nie zostały zapłodnione bądź nie podjęły podziałów komórkowych po zapłodnieniu *in vitro* (45, 52). Jednocześnie na podkreślenie zasługuje fakt, że częstość pojawiania się nosicieli aberracji wśród żywo urodzonych zwierząt jest niska, co sugeruje, że zarodki obciążone anomaliami podlegają stopniowej eliminacji podczas ontogenezy. Potwierdzają to badania wskazujące na wyższą częstotliwość pojawiania się anomalii chromosomowych wśród zarodków we wczesnych stadiach rozwojowych (14, 37).

Ze względu na rodzaj pochodzenia, aberracje chromosomowe można zaliczyć do dwóch kategorii:

- anomalie dziedziczne; pojawiają się w gametach nosicieli aberracji;

- anomalie powstające *de novo*; są efektem zaburzeń podczas gametogenezy, zapłodnienia lub rozwoju zarodka. Obserwowane są w gametach lub zarodkach pochodzących od osobników o prawidłowym genotypie. Stwierdzono, że około 1/4 tych anomalii powstaje podczas gametogenezy (aneuploidie), natomiast pozostałe 3/4 w czasie zapłodnienia i pierwszych podziałów bruzdkowania (haploidie, poliploidie, mixoploidie) (22).

Opanowanie techniki dojrzewania i zapłodnienia oocytów *in vitro* umożliwiło objęcie kontrolą cytogenetyczną poszczególnych etapów dojrzewania i zapłodnienia oocytów oraz pierwszych podziałów bruzdkowania zarodków. Badania cytogenetyczne znalazły szerokie zastosowanie w biotechnologii rozrodu zwierząt (44). W szczególności mają one na celu:

- kontrolę przebiegu dojrzewania oocytów *in vivo* oraz *in vitro*;

- ocenę częstości występowania oraz rodzajów aberracji chromosomowych w oocytach drugiego rzędu;

- ocenę prawidłowości zestawu chromosomowego plemnika (analiza przedjądra męskiego w zygotach) przy wykorzystaniu metody zapłodnienia heterologicznego (test penetracji dojrzałych oocytów chomika złocistego) lub zapłodnienia homologicznego, które jednocześnie pozwala na ocenę zdolności zapładniającej plemników;

- analizę prawidłowości zestawu chromosomowego zarodków uzyskanych metodą zapłodnienia *in vitro* lub *in vivo*;

- cytogenetyczne oznaczanie płci zarodków.

Kontrola przebiegu procesu dojrzewania oocytów *in vitro*

Mejoza w gametach żeńskich rozpoczyna się już w jajnikach płodu (u bydła około 80 dzień ciąży), a następnie zatrzymywana jest w profazie pierwszego podziału w stadium diplotenu (u bydła około 200 dnia ciąży). Po osiągnięciu tego stadium jądro komórkowe oocytu przechodzi w stan spoczynku zwany diktioteniem. Ponownie zahamowanego podziału w warunkach *in vivo* indukowane jest hormonalnie i następuje tuż przed owulacją, natomiast *in vitro* ma miejsce w momencie usunięcia oocytu z pęcherzyka jajnikowego. Po osiągnięciu stadium metafazy drugiego podziału meiotycznego, mejoza jest ponownie zatrzymywana, a podział jest finalizowany tylko w przypadku zapłodnienia lub aktywacji oocytu.

Przebieg procesu dojrzewania oocytów w warunkach *in vitro* został dość dokładnie zbadany w odniesieniu do bydła. Większość niedojrzałych oocytów (około 96%) pozyskanych z pęcherzyków jajnikowych posiada jądro komórkowe w stadium diktiotenu, określane mianem pęcherzyka zarodkowego (18). Stadium to możliwe jest do zaobserwowania przez pierwsze 6-10 godzin hodowli (16, 43). Proces kondensacji chromosomów rozpoczyna się w momencie przejścia ze stadium diktiotenu do diakinezy (faza rozpadu pęcherzyka zarodkowego – germinal vesicle breakdown-GVBD). Stopień kondensacji chromatyny w tym stadium może być zróżnicowany. Oocyty w diakinezie dominują między 11 a 17 godziną hodowli (43). Biwalenty w diakinezie są stosunkowo długie, czasami z widocznymi miejscami

krzyżowania się chromatyd (chiazmy). Przejście do metafazy pierwszego podziału mejotycznego (MI) jest raczej trudno dostrzegalne. Stopień kondensacji chromatyny jest większy niż w diakinezie, a biwalenty krótsze. Liczba oocytów w stadium MI wzrasta począwszy od 8 godziny inkubacji, uzyskując maksimum około 14 godziny. Jądra komórkowe w stadium anafazy pierwszej mejozy (AI) obserwuje się rzadko ze względu na krótki czas jej trwania. W tym czasie dochodzi do rozchodzenia się chromosomów homologicznych do przeciwległych biegunów wrzeczona podziałowego. Stwierdzono, że proces rozchodzenia się chromosomów może być zakłócany, czego wynikiem jest opóźnienie w rozchodzeniu się do biegunów niektórych chromosomów, co wpływa na nierównomierne rozdzielanie diploidalnego zestawu chromosomów i powstanie jąder potomnych o zmienionej liczbie chromosomów (zjawisko nondysjunkcji) (9). Komórki w stadium telofazy pierwszego podziału mejotycznego dominują między 15-16 godziną inkubacji. W fazie TI rozdzielanie chromosomów jest zakończone i dochodzi do wyrzucenia pierwszego ciała kierunkowego (18). Stopień rozproszenia chromosomów zarówno oocytu jak i ciała kierunkowego jest zbliżony, a identyfikacja poszczególnych chromosomów jest niemożliwa. Przejście jądra komórkowego oocytu ze stadium TI do metafazy drugiego podziału mejotycznego (MII) trwa krótko. Maksymalne nasilenie występowania tego stadium stwierdzono między 18 a 24 godziną hodowli (16, 17, 43). W tym stadium zestaw chromosomów oocytu jest przeważnie dobrze rozproszony, co umożliwia identyfikację poszczególnych chromosomów, natomiast chromosomy ciała kierunkowego są silnie upakowane.

Ocena częstości występowania oraz rodzajów aberracji chromosomowych w oocytach drugiego rzędu. Mutacje chromosomowe dzieli się na dwie podstawowe kategorie:

- mutacje strukturalne polegające na zmianach w układzie genów w chromosomach; do tej grupy należą translokacje, inwersje, delecje i duplikacje;
- mutacje liczbowe polegające na odchyleniach od stałej dla danego gatunku, diploidalnej liczby chromosomów; w grupie tej wyróżnia się:
 - aneuploidie – gdy w miejscu pary chromosomów homologicznych występuje nietypowa ich liczba, np. jeden tj. $2n-1$ = monosomia, lub trzy chromosomy tj. $2n+1$ = trisomia;
 - euploidie – gdy haploidalny zestaw chromosomów występuje w zwielokrotnionej liczbie (np. $3n$ = triploidia).

Analiza cytogenetyczna oocytów drugiego rzędu polega na ustaleniu prawidłowości ich haploidalnego zestawu chromosomów. Prowadzona jest ona w oparciu o metodę wykonywania preparatów chromosomowych opisaną przez Tarkowskiego (46). Najczęściej obserwowanymi anomaliami chromosomowymi doj-

rzałych oocytów są mutacje liczbowe typu aneuploidii oraz euploidii – głównie diploidalna liczba chromosomów (22). Dotychczasowe badania wykazują, że częstość pojawiania się oocytów obarczonych nieprawidłowościami chromosomowymi jest zmienna zależnie od gatunku np. dla oocytów bydłych wynosi 1,9-16,5%, dla oocytów świńskich 15,6-28,2% (tab. 1).

Częstość występowania oocytów aneuploidalnych

Przyczyną powstawania aneuploidalnych gamet jest zjawisko nondysjunkcji. Jeżeli chromosomy z pary homologicznej przejdą razem do jednego bieguna podczas anafazy pierwszego podziału mejotycznego, wówczas po drugim podziale powstaną komórki o odmiennym od typowego składzie chromosomowym np. $n+1$ (hiperhaploidie) oraz $n-1$ (hipohaploidie). Ponieważ w większości prac wykazano przewagę liczby komórek hipo- nad hiperhaploidalnymi (23, 29, 45), sugeruje się, że inną przyczyną powstawania aneuploidii mogą być opóźnienia chromosomów podczas anafazy, prowadzące do ich zagubienia (cyt. 52). Należy jednak podkreślić, że podczas analizy mikroskopowej nie można stwierdzić, czy zmieniona liczba chromosomów jest efektem zaburzeń w przebiegu anafazy podziału mejotycznego czy też artefaktu wynikającego z zagubienia chromosomów podczas procedury wykonywania preparatów. Z tego powodu do ustalania poziomu nondysjunkcji (ND) z reguły stosuje się następującą zależność (51):

$$ND = \frac{2 \times \text{liczba metafaz hiperhaploidalnych}}{\text{ogólna liczba metafaz}}$$

Badania cytogenetyczne oocytów zwierząt wykazały różnice gatunkowe odnośnie częstości występowania zjawiska nondysjunkcji, która kształtuje się średnio na poziomie 2-7% (np. 5,8% u bydła (23), 5,5% u konia (23), 14,2% u świni (4)).

Częstość występowania oocytów drugiego rzędu o diploidalnej liczbie chromosomów

Występowanie dojrzałych oocytów o niezredukowanej, diploidalnej liczbie chromosomów jest drugim typem najczęściej obserwowanych anomalii chromosomowych. Dyban i Baranow (8) wysunęli kilka hipotez tłumaczących mechanizm powstawania oocytów o diploidalnej liczbie chromosomów (ryc. 1):

- blokada mejozy w stadium anafazy pierwszego podziału po rozdzieleniu się biwalentów, wskutek czego nie dochodzi do wyrzucenia pierwszego ciała kierunkowego i uzyskania przez oocyt stanu haploidalności jądra komórkowego;
- blokada zakończenia mejozy po zapłodnieniu lub aktywacji w stadium anafazy drugiego podziału, wskutek czego nie dochodzi do wyrzucenia drugiego ciała kierunkowego. Na bazie pozostałego w oocycie zestawu chromosomowego powstają albo dwa

Tab. 1. Porównanie częstości występowania aberracji chromosomowych w gametach męskich i żeńskich

Gatunek	Częstość występowania poszczególnych rodzajów aberracji chromosomowych w gametach męskich i żeńskich (%)					
	Ogółem	Aneuploidie		Diploidie	Aberracje strukturalne	Źródło
		Hipohaploidie	Hiperhaploidie			
gamety męskie						
Człowiek	9,0	2,0	5,4	0	1,6	(26)
	10,9	4,7	0	0	6,2	(30)
	4,0	3,3	0,7	0	0	(31)
Mysz	8,2	0	4,4	0,2	3,6	(33)
Bydło	2,5	2,5	0	0	0	(51)
gamety żeńskie						
Człowiek	30,6	10,8	11,9	6,9	1,0	(39)
	25,9	17,0	1,8	7,1	0	(45)
	31,7	19,2	6,7	5,8	0	(52)
	14,3	3,6	0,5	0	10,2	(32)
Bydło	1,9	0	0	1,9	0	(16)
	3,6	0	0	3,6	0	(20)
	2,4	0	0	2,4	0	(22)
	16,5	5,8	0	10,7	0	(51)
Koń	8,2	5,5	0	2,7	0	(22)
	19,2	13,8	2,7	2,7	0	(23)
Świnia	15,6	3,4	0	12,2	0	(22)
	73,8	52,5	7,1	14,2	0	(4)
Królik	10,2	7,3	2,9	0	0	(1)

haploidalne, albo jedno diploidalne przedjądrze żeńskie;

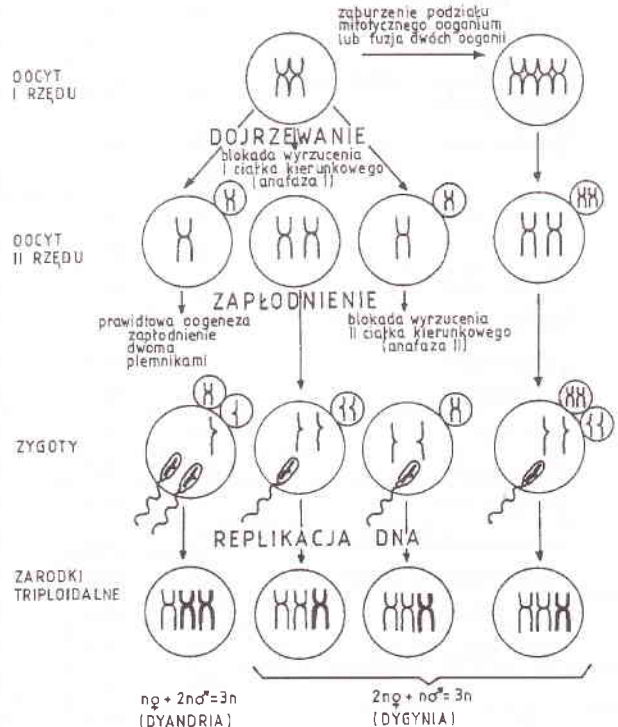
– zaburzenie przebiegu podziałów mitotycznych oogonii, w wyniku czego powstaje poliploidalna komórka (4n) podlegająca prawidłowemu podziałowi mitotycznemu. Tetraploidalne oogonium może powstać albo na drodze blokady anafazy mitotycznej, albo wskutek fuzji dwóch diploidalnych komórek.

U zwierząt częstość występowania diploidalnych form oocytów drugiego rzędu różni się między gatunkami i wynosi: 10,7% u bydła (51), 14,2% u świni (4) oraz 12,2% u konia (22). Badania prowadzone na oocytach gryzoni wykazały zależności między liczbą diploidalnych form oocytów w populacji owulowanych komórek, a dawką gonadotropin użytych do superowulacji (cyt. 45). Podobne obserwacje autorzy ci poczynili w przypadku oocytów ludzkich. Za najczęstszą przyczynę powstawania diploidalnych form oocytów uznaje się zakłócenie wyrzucenia ciała kierunkowego.

Ocena prawidłowości zestawu chromosomowego plemnika

Badania oocytów ze względu na specyfikę przebiegu gametogenezy żeńskiej oraz ograniczoną liczbę komórek rozrodczych przeprowadzane są w znacznie mniejszym zakresie niż badania plemników. Uzyskanie zarodka o prawidłowym kariotypie uzależnione jest m.in. od faktu, czy gamety biorące udział w zapłodnieniu nie są nosicielami anomalii chro-

mosomowych. Ponieważ spermatogeneza jest procesem ciągłym, charakteryzującym dojrzałego płciowo samca, a liczba produkowanych plemników teoretycznie nieograniczona, zatem pozyskanie materiału do analizy nie stanowi problemu. Jednakże, po zakończeniu podziału mejotycznego chromatyna ple-



Ryc. 1. Mechanizmy powstawania diploidalnych form oocytów drugiego rzędu oraz zarodków triploidalnych (zmodyfikowane wg Dybana i Baranowa, 1989)

mnika jest silnie upakowana w skondensowanym jądrze komórkowym i dlatego poszczególne chromosomy nie mogą być identyfikowane. W celu uwidocznienia haploidalnego zestawu plemnika stosuje się jedną z niżej wymienionych metod opartych o zapłodnienie *in vitro*:

– zapłodnienie homologiczne w obrębie tego samego gatunku; niezbyt skuteczna metoda ze względu na problemy z identyfikacją przedjądrza męskiego z wyjątkiem przedjądrzy, w których łatwo można zidentyfikować chromosom Y (np. u bydła) lub chromosomy markerowe. Metoda ta pozwala jednak na równoczesną ocenę zdolności zapładniającej nasienia (10, 50);

– zapłodnienie heterologiczne oocytów jednego gatunku przez gatunkowo obce plemniki; w przypadku dużych różnic w morfologii chromosomów obu gatunków, metoda ta okazuje się najbardziej skuteczna. Główną barierą przy zapłodnieniu heterologicznym stanowi osłonka przejrzysta, która posiada gatunkowo specyficzne receptory plemników – ZP3 (49). Penetracja oocytów przez gatunkowo obce plemniki staje się możliwa po jej usunięciu.

Najpowszechniej stosowaną formą zapłodnienia heterologicznego stał się test penetracji pozbawionych osłonki przejrzystej, dojrzałych oocytów chomika złocistego (*Mesocricetus auratus*) przez plemniki różnych gatunków zwierząt: świni (3, 6), owcy (47),

bydła (17), konia (cyt. 7) a przede wszystkim człowieka (26, 41). Zestaw chromosomów oocytów chomika jest łatwo odróżniany od zestawu plemników omawianych gatunków. Obejmuje on 22 chromosomy, wśród których wyróżnia się duży, metacentryczny chromosom X oraz jeden mały chromosom akrocentryczny (28). Metodyka przeprowadzania testu penetracji oocytów chomika obejmuje kilka etapów (27):

– superowulacja samic chomika (od samicy można uzyskać od 40 do 60 oocytów);

– kapacytacja analizowanego nasienia;

– inseminacja oocytów kapacytowanym nasieniem (częstość penetracji wynosi średnio 37%) i inkubacja gamet przez 2-3 godziny;

– wykonanie preparatów cytogenetycznych i analiza zestawu chromosomowego przedjądrza męskiego.

Najczęściej pojawiającymi się aberracjami są aneuploidie oraz anomalie strukturalne takie jak: pęknięcia chromosomów, translokacje, duplikacje, inwersje oraz delecje (5). U myszy stwierdzono również plemniki o diploidalnym zestawie chromosomów, które stanowiły jednak zaledwie 0,2% analizowanej populacji (33). Częstość występowania plemników z anomaliami chromosomowymi jest niższa niż częstość pojawiania się aberracji wśród oocytów i wynosi: u bydła 2,5%, u myszy 8,2% i u człowieka 4,0-10,9% (tab. 1).

Tab. 2. Występowanie anomalii chromosomowych w zarodkach

Gatunek	Kategoria analizow. zarodków	Liczba analizow. zarodków (100%)	Typy anomalii chromosomowych w zarodkach (%)							
			Ogółem	Haploidie	Aneuploidie		Poliploidie		Mixoploidie	Źródło
					Hiperhapl	Hipohapl	Triplo- (3n)	Tetra- (4n)		
Bydło	superowulacja (7 dzień)	24	16,6	8,3	0	0	0	0	8,3	(19)
		34	11,7	0	0	8,8	0	0	2,9	(36)
	superowulacja (7 dzień, zarodki niskiej jakości)	75	21,4	0	2,7	0	0	2,7	16,0	(21)
	superowulacja (7 dzień)	39	36	2,6	10,3	10,3	0	0	12,8	(2)
	2-4 blastomery	1005	13,7	1,4	0,6	0,2	10	1,2	0,3	(12)
	blastoc.: IVF	72	38,3	0	0	0	6,3	0	32,0	(15)
		<i>in vivo</i>	24	29,1	0	0	0	8,3	0	20,8
	blastoc.: IVF	22	18,1	4,5	0	0	9,1	0	4,5	(14)
		<i>in vivo</i>	18	22,2	0	0	0	0	22,2	
	2 blastomery	19	36,9	5,3	0	0	10,5	5,3	15,8	
	8 blastomerów	5	20,0	0	0	0	0	0	20,0	
	> 8 blast	265	13,5	1,1	0	0	1,9	3,0	7,5	(25)
2 bl - morula	158	2,5	2,5	0	0	0	0	0	(13)	
plody (8 mies.)	55	10,7	0	0	0	0	0	0	(42)	
Owca	superowulacja (2-8 blast.)	73	11,0	4,1	1,4	0	0	0	5,5	(33)
	superowulacja (7 dzień)	103	46,6	0	0	0	0	46,6	(37)	
	plody (24-32 dni)	116	69,0	0	0	0	0	69,0		
	superowulacja 2-7 dni	48	6,3	2,1	0	0	2,1	0	2,1	(38)
Świnia	-	421	4,7	0,2	0	0	1,4	1,0	2,1	(cyt. 22)
	4 dni	197	17,7	12,2	2,5	0	2,0	1,0	0	(48)
Królik	2-4 blastomery	121	22,3	0	0	5	16,5	0,8	0	(1)

Objaśnienie: IVF – zarodki uzyskane metodą zapłodnienia *in vitro*.

Analiza zestawu chromosomowego zarodków

Analiza cytogenetyczna umożliwia identyfikację typów anomalii chromosomowych w zarodkach oraz ocenę częstości ich pojawiania się. Wymaga ona obecności jąder komórkowych blastomerów w stadium metafazy mitotycznej, których udział w populacji analizowanych komórek określa indeks mitotyczny. Parametr ten wyraża stosunek liczby jąder komórkowych w stadium metafazy do ogólnej liczby obserwowanych jąder. Indeks mitotyczny uzyskiwany przy analizie zarodków nie przekracza zwykle 20% (14, 15, 40). Stwierdzono, że udział blastomerów w metafazie zależy m.in. od jakości analizowanych zarodków. Z zarodków o prawidłowej morfologii zwykle uzyskuje się więcej metafaz przydatnych do analizy niż z zarodków, w których stwierdzono zmiany degeneracyjne (21). Analiza cytogenetyczna możliwa jest do przeprowadzenia w stosunku do 34-87% zarodków, z których wykonano preparaty chromosomowe, przeciętnie około 48% (11, 22, 35, 37).

Z zestawienia przedstawionego w tab. 2 wynika, że częstość występowania anomalii chromosomowych waha się w szerokich granicach i wynosi: u człowieka 14,3-44,6%, u bydła 2,5-36,2%, u owcy 6,3-69%, u świni 5-17,8%. Duża rozpiętość wyników spowodowana jest prawdopodobnie faktem, że często badaniami obejmuje się stosunkowo niewielką liczbę zarodków. Poza zarodkami o prawidłowym kariotypie stanowiących większość, pojawiają się zarodki posiadające linie komórkowe o różnym poziomie ploidalności tzw. zarodki miksploidalne (0,3-69%), wśród których najczęstszy jest układ $n/2n$ (cyt. 22). Wśród zarodków poliploidalnych pojawiających się z częstością 2,1-17,3%, najczęściej obserwuje się triploidie, rzadziej tetraploidie. Dodatkowy zestaw haploidalny w zarodkach triploidalnych – jak pokazano na ryc. 1 – może pochodzić z gamety żeńskiej (dygynia) lub męskiej (dyandria). Ostatnio, badania McFadden i wsp. (34) przeprowadzone na płodach ludzkich z wykorzystaniem analizy polimorfizmu DNA wykazały około 75% triploidii typu dygynii, a 25% typu dyandrii, co wskazuje na znaczny udział czynnika męskiego w powstawaniu tego typu anomalii. Zarodki aneuploidalne występują u zwierząt z częstością 0,9-20,5%, a haploidalne 1,1-11,2% (tab. 2).

Piśmiennictwo

1. Asakawa T., Ishikawa M., Shimizu T., Dukelow W. R.: Biol. Reprod. 38, 292, 1988.
2. Benevides-Fihlo I. M., Pinherio E. L.: Rev. Brasil. Genet. 11, 661, 1988.
3. Benkhalifa M., Bonnaeu M., Popescu P., Boscher J., Boucher D., Malet P.: Ann. Genet. 35, 61, 1992.
4. Bonnaeu M., Benkhalifa M., Malet P., Popescu P.: Abstr. 10th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., Utrecht, August 8-21, 1992, s. 28.
5. Brandriff B., Gordon L. A., Moore H.D., Carrano A. V.: Cytogenet. Cell. Genet. 47, 29, 1988.
6. Creighton P., Houghton J. A.: J. Reprod. Fert. 80, 619, 1987.

7. Creighton P., Houghton J. A.: w Halnan C. R. E. (red.): Cytogenetics of Animals. CAB International, 1989, rozdz. 4, 57-63.
8. Dyban A. P., Baranov W. S.: Die Zytogenetic der Sauger-Embryogenese. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 1989.
9. Gajewski W.: Genetyka ogólna i molekularna PWN, Warszawa, 1983.
10. Ivanova M. D., Mollova M. V.: Proc. 12th Internat. Congress Anim. Reprod. August 23-27, The Hague, 1992, s. 481.
11. Iwasaki S., Shioya Y., Hanada A., Nakahara T.: Jpn J. Anim. Reprod. 34, 79, 1988.
12. Iwasaki S., Shioya Y., Masuda H., Hanada A., Nakahara T.: Gamete Res. 22, 83, 1989.
13. Iwasaki S., Hamano S.: J. Heredity 82, 420, 1991.
14. Iwasaki S., Nakahara T.: Theriogenology 34, 683, 1990.
15. Iwasaki S., Nakahara T.: Theriogenology 33, 669, 1990.
16. Jagiełło G. M., Miller W. A., Ducayen M. B., Lin J. S.: Biol. Reprod. 10, 354, 1974.
17. Johnson L. A., Clarke R. N.: Gamete Res. 21, 335, 1988.
18. Kątska L.: Roczn. Nauk. Zoot. 23, 83, 1985.
19. King W. A., Picard L.: Canad. J. Genetics Cytol. 27, 69, 1985.
20. King W. A., Bousquet D., Greve T., Goff A. K.: Acta Vet. Scand. 27, 267, 1986.
21. King W. A., Guay P., Picard L.: Genome 29, 160, 1987.
22. King W. A.: Adv. Vet. Sci. 34, 229, 1990.
23. King W. A., Desjardins M., Xu K. P., Bousquet D.: Genet. Sel. Evol. 22, 151, 1990.
24. King W. A.: Can. Vet. J. 32, 99, 1991.
25. King W. A.: Proc. 7th North America Colloq. Domest. Anim. Cytogenet. Gene Mapping, Philadelphia, July 8-11, 1991, s. 15.
26. Martin R. H., Lin C. C., Balkan W., Burus K.: Am. J. Hum. Genet. 34, 459, 1982.
27. Martin R. H.: Cytogenet. Cell Genet. 35, 252, 1983.
28. Martin R. H.: Biol. Reprod. 31, 819, 1984.
29. Martin R. H., Mahadevan M. M., Taylor P. J., Hidebrandt T. K., Long-Simpson L., Peterson D., Yamamoto J., Fleetham J.: J. Reprod. Fertil. 78, 673, 1986.
30. Martin R. H., Rademaker A. W.: Am. J. Mun. Genet. 41, 484, 1987.
31. Martin R. H., Rademaker A. W.: Cytogenet. Cell Genet. 53, 103, 1990.
32. Martin R. H., Rademaker A. W., Ko E., Barclay L., Hidenbrand K.: Biol. Reprod. 47, 268, 1992.
33. Martin-DeLeon P. A.: Gamete Res. 22, 71, 1989.
34. McFadden D. E., Kwong L. C., Yam I. Y. L., Langlois S.: Hum. Genet. 92, 465, 1992.
35. Murray J. D., Boland M. P., Moran C., Sutton R., Nancarrow C. D., Scaramuzzi R. J., Hoskinson R. M.: J. Reprod. Fertil. 74, 551, 1985.
36. Murray J. D., Moran C., Boland M. P., Doff A. M., Nancarrow C. D.: Canad. J. Genetics Cytol. 27, 483, 1985.
37. Murray J. D., Moran C., Boland M. P., Nancarrow C. D., Sutton R., Hoskinson R. M., Scaramuzzi R. J.: J. Reprod. Fertil. 78, 439, 1986.
38. Murray J. D., Boland M. P., Moran C.: J. Reprod. Fertil. 78, 433, 1986.
39. Plachot M., De Grouchy J., Janca A. M., Mandelbaum J., Turleau C., Couillin P., Cohen J., Salat-Baroux J.: Ann. Genet. 30, 22, 1987.
40. Romagnano A., King W. A., Richer C. L., Perrone M. A.: Can. J. Genetics Cytol. 27, 365, 1985.
41. Rudak E., Jacobs P. A., Yanagimachi R.: Nature 274, 911, 1978.
42. Schmuz S. M., Moker J. S., Clark E. G., Orr J. P.: Proc. 8th North American Colloq. Domest. Anim. Cytogenet. Gene Mapping, Guelph, July 13-16, 1993, s. 51.
43. Suss U., Wuthrich K., Stranzinger G.: Biol. Reprod. 38, 871, 1988.
44. Świtoński M.: Przegl. Hod. 9/10, 20, 1990.
45. Tarin J. J., Pellicer A.: Fertil. Steril. 54, 665, 1990.
46. Tarkowski A. K.: Cytogenetics 5, 394, 1966.
47. Tateno H., Akaike M., Futui Y., Kamiguchi Y., Mikamo K.: Theriogenology 34, 845, 1990.
48. Underhill K. L., Downey B. R., McFarlane C., King W. A.: Theriogenology 35, 779, 1991.
49. Wassarman P. M.: Theriogenology 41, 31, 1994.
50. Yadav B. R., Xu K. P., King W. A., Plante L.: Abstr. 6th North Am. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., Purdue, July, 1989, s. 10.
51. Yadav B. R., King W. A., Xu K. P., Pollard J. W.: Genet. Sel. Evol. 23, 191, 1991.
52. Zenzes M. T., Casper F. R.: Hum. Genet. 88, 367, 1992.