

INFLUENȚAREA RAPORTULUI SECUNDAR AL SEXELOR LA ȘOARECI PRIN MODIFICAREA pH-ULUI VAGINAL

IULIA-MARIA BALACI¹, IOANA CRISTINA ILEA¹, DANA LILIANA PUSTA², IOAN ȘTEFAN GROZA¹

¹Disciplina de Reproducție, Obstetrică și Ginecologie veterinară

²Disciplina de Genetică veterinară

Facultatea de Medicină Veterinară, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Cluj-Napoca

Rezumat

Introducere și scop. În populația animală, dar și în cea umană, se pune frecvent problema influențării sexului descendenților. Pentru populația umană, aceasta depinde în special de o preferință a părinților, dar poate avea importanță economică pentru proprietarii de animale și o mare aplicabilitate pentru conservarea speciilor. Cu toate acestea, metodele de influențare a raportului secundar al sexelor țin mai mult de tradiția populară și nu de date științifice. În acest sens, cercetările întreprinse propun testarea uneia dintre metode și anume modificarea pH-ului vaginal.

Materiale și metodă. În acest studiu au fost folosiți 9 șoareci și 27 șoricioaice adulte din rasa CD1, împărțiți în trei grupuri experimentale, care au urmat același protocol. Fiecare grup experimental a fost împărțit la rândul său în trei loturi a câte un mascul și trei femele. Astfel, la un lot s-a alcalinizat pH-ul vaginal, la unul s-a acidifiat pH-ul și un lot a fost martor. Animalele au fost împerechiate, iar raportul sexelor a fost evaluat la șapte zile după parturiție. La femelele din toate loturile s-a determinat zilnic pH-ul vaginal și s-au efectuat spălăturile vaginale, până în momentul depistării gestației.

Rezultate. La toate cele trei grupuri experimentale s-a observat tendința de a se obține mai mulți masculi în loturile cu pH-ul acidifiat și mai multe femele în loturile cu pH-ul alcalinizat, față de loturile martor corespunzătoare.

Concluzii. Rezultatele acestui studiu indică faptul că modificarea pH-ului vaginal, prin alcalinizarea sau acidifierea acestuia, alături de alți factori menționați în literatura de specialitate, exercită o influență asupra raportului secundar al sexelor la șoareci, deși nu s-a descoperit mecanismul de acțiune.

Cuvinte cheie: raportul sexelor, pH-ul vaginal.

THE INFLUENCE OF THE SECONDARY SEX RATIO IN MICE BY MODIFYING THE VAGINAL pH

Abstract

Background & aims. Within the animal population, but also in the human one, the problem of influencing the sex of the offspring is often in question. For the human population it is only a question of parents' preference, but there is an important economic use for animal breeders and it is highly applicable for species preservation. Even so, the methods of influencing the secondary sex ratio are more based on folklore than science. In this respect, the present study tests one of these myths, namely the change of vaginal pH.

Materials and methods. The study was conducted on 9 male mice and 27 female mice divided in three breeding lots, following the same protocol. For each breeding lot there have been used 3 groups of 3 females and 1 male each, the first group having the vaginal pH acidified, the second having it lixiviated and the third being the control group. All mice were mated, and the sex ratio was evaluated 7 days after birth. In each

group the vaginal pH was measured and the females were given vaginal baths daily, until the gestation was observed.

Results. During the three breeding lots the tendency of obtaining more males in the groups that had their pH acidified and more females in the lots that had their pH lixiviated in comparison with the corresponding control group was maintained.

Conclusion. This study's results indicate that change in vaginal pH, among other factors mentioned by literature, tends to influence the secondary sex ratio in mice, although the mechanism of this phenomenon is unknown.

Keywords: sex ratio, vaginal pH.

INTRODUCERE

Teoriile clasice ale geneticii anticipează un raport al sexelor de 1:1 în cazul majorității populațiilor animale. Mecanismul de menținere la această valoare a raportului a fost explicat inițial de Darwin în 1871 [11] și apoi popularizat de Fisher în 1967 [3]. Cu toate acestea, dacă la nivelul unei populații se poate menține acest raport teoretic, la nivel de grupuri delimitate s-au observat variații importante, în favoarea unui sex sau a celuilalt.

Consecutiv acestui lucru, de aproape un secol se fac diverse studii, care doresc fie să descopere potențialii factori, fie să testeze gradul de implicare a unui anumit factor, cunoscut deja, în modificarea raportului sexelor descendenților. Printre factorii cel mai frecvent testați de-a lungul timpului, s-au remarcat statusul hormonal al femelei pe perioada concepției [1,8], alimentația femelei [2,5] și statutul de dominanță al acesteia [10].

În acest context, lucrarea de față are ca obiectiv evaluarea efectului unui nou potențial factor asupra raportului sexelor descendenților și anume variația pH-ului vaginal al șoricioaicelor în momentul concepției prin acidifierea, respectiv alcalinizarea acestuia. Experimentele cuprinse în această lucrare sunt actuale, evaluarea influenței modificării pH-ului vaginal asupra raportului secundar al sexelor la șoricioaică fiind un experiment original, gândit și pus în practică de către autorii lucrării.

OBIECTIVE

În această lucrare ne propunem să evaluăm efectul modificării pH-ului vaginal al șoricioaicelor asupra raportului sexelor descendenților, prin acidifierea, respectiv alcalinizarea acestuia, în momentul concepției.

MATERIALE ȘI METODĂ

Studiul s-a efectuat pe 27 șoricioaice adulte și 9 șoareci adulți din rasa CD1, similari ca vârstă și greutate, împărțiți în trei grupuri experimentale, a câte nouă femele și trei masculi fiecare. Aceste grupuri experimentale au fost separate în timp și spațiu, dar au urmat același protocol. Fiecare grup experimental a fost împărțit în trei loturi a câte trei femele și un mascul, astfel: lotul unu la care s-a acidificat pH-ul vaginal folosind soluție tampon fosfat de potasiu 0,1 M cu pH 7; lotul doi la care s-a alcalinizat pH-ul vaginal

folosind soluție tampon acid boric-borax 0,05M cu pH 9 și un lot martor (lotul trei). pH-ul vaginal al fiecărei șoricioaice a fost măsurat zilnic cu ajutorul hârtiei pH-metrice și s-au efectuat spălături vaginale cu soluțiile tampon, în funcție de lot. Cele trei loturi au fost menținute în permanență în aceleași condiții de întreținere, de temperatură și au primit aceeași hrană. Spălăturile vaginale zilnice au continuat până la instalarea gestației, evidențiată prin apariția dopului vaginal, după care femelele au fost supravegheate 21 de zile până la parturiție (Fig. 1, 2).

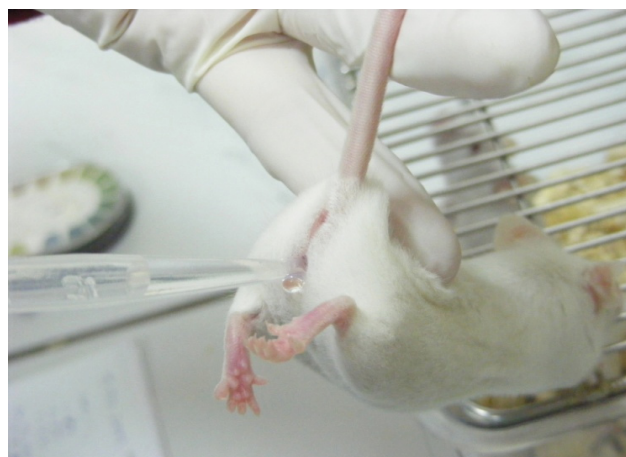


Fig. 1. Metoda de efectuare a spălăturilor vaginale (original).

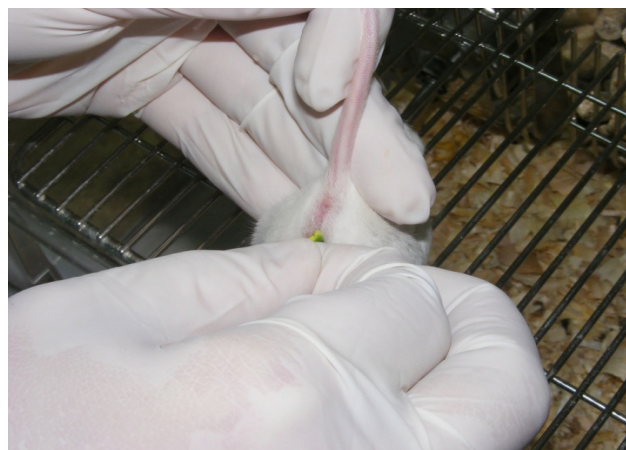


Fig. 2. Metoda de măsurare a pH-ului vaginal cu ajutorul hârtiei pH-metrice (original).

Sexul descendenților nu a putut fi determinat cu certitudine prin metode neinvazive imediat după fătare, astfel că s-a așteptat până la vârsta de șapte zile a acestora pentru a observa sexul. Acesta a fost evaluat luându-se în considerare distanța dintre anus și aparatul genital, care este mai mare în cazul masculilor, precum și evidențierea mamelelor în cazul femelelor.

După evaluarea sexului puilor, s-a calculat raportul sexelor pe fiecare lot. Mai mulți cercetători au dovedit influența alimentației și a stresului (inclusiv cel cauzat de condițiile de mediu exterior) asupra raportului sexelor descendenților [2,4,6,7,9], astfel că raportarea s-a făcut față de lotul martor din fiecare grup experimental, care a fost alimentat cu același nutreț și care a fost ținut în aceleași condiții ca și loturile experimentale.

REZULTATE

În primul grup experimental, în urma parturițiilor, s-au obținut în primul lot șapte descendenți, dintre care patru masculi și trei femele, cu un raport al sexelor de 1,33:1 în favoarea masculilor. La lotul doi s-au obținut 27 de pui, 12 femele și 15 masculi, înregistrându-se un raport al sexelor de 1,25:1 în favoarea masculilor, iar în lotul martor s-au obținut 28 de pui, 8 femele și 20 de masculi, cu un raport al sexelor de 2,5:1 în favoarea masculilor (Fig. 3).

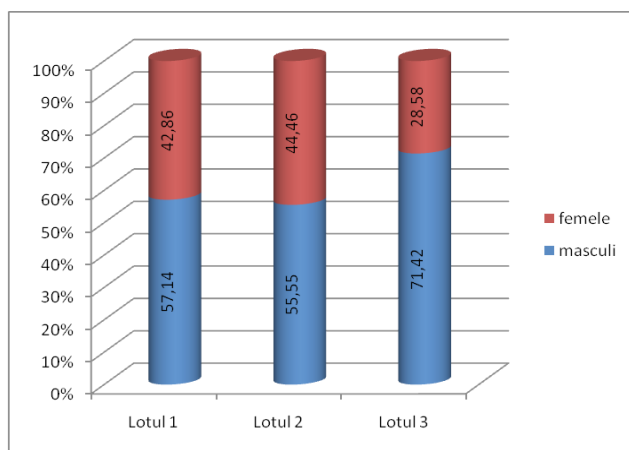


Fig. 3. Reprezentarea grafică a valorilor relative ale raportului sexelor din fiecare lot, din primul grup experimental.

În cel de-al doilea grup experimental, o șoricioaică din lotul unu și două șoricioaice din lotul doi nu au rămas gestante. În urma parturițiilor, la primul lot s-au obținut 15 pui, dintre care 10 masculi și cinci femele, cu un raport al sexelor de 1,5:1 în favoarea masculilor. La al doilea lot s-au obținut 10 pui, cinci masculi și cinci femele, cu un raport al sexelor de 1:1; iar în lotul martor s-au obținut 21 de pui, 12 masculi și nouă femele, cu un raport al sexelor de 1,33:1 (Fig. 4).

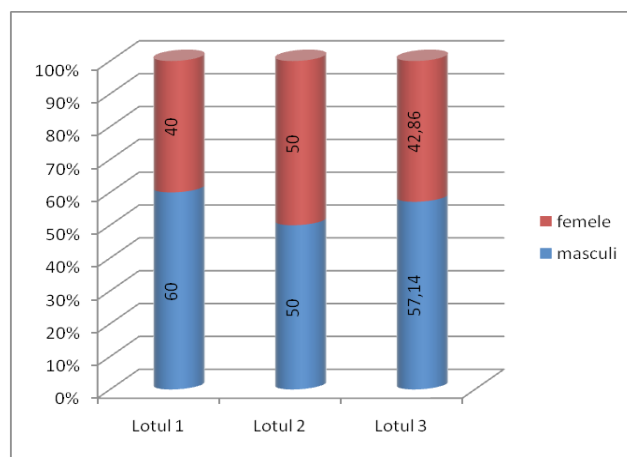


Fig. 4. Reprezentarea grafică a valorilor relative ale raporturilor sexelor în cele 3 loturi, din al 2-lea grup experimental.

În ultimul grup experimental nu s-a obținut nici un pui în cadrul lotului cu pH-ul vaginal alcalinizat, iar la lotul martor o singură șoricioaică a fătat. În urma parturițiilor, la primul lot s-au obținut 37 de pui. Fătările au avut loc în perioade diferite, prima oară obținându-se 25 de pui, dintre care 14 masculi și 11 femele, cu un raport al sexelor de 1,27:1 în favoarea masculilor, pe când la două săptămâni diferență s-au obținut 12 pui, șase masculi și șase femele, cu un raport al sexelor de 1:1. La lotul martor s-au obținut 13 de pui, cinci masculi și opt femele, cu un raport al sexelor de 0,6:1 în favoarea masculilor (Fig. 5).

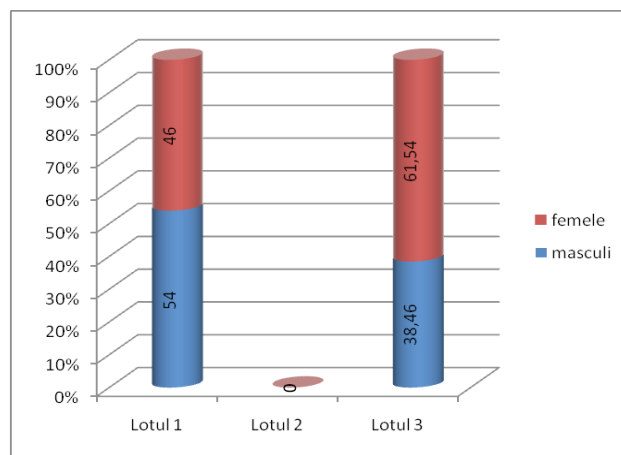


Fig. 5. Reprezentarea grafică a valorilor relative ale raporturilor sexelor în cele 3 loturi, din cel de-al 3-lea grup experimental.

DISCUȚII

Fertilitatea femelelor și numărul de gestații obținut în fiecare lot și grup experimental a variat foarte mult. Diferența numărului de descendenți obținut în fiecare lot nu este constantă în toate grupurile experimentale, în fiecare lot observându-se la un moment dat o scădere a numărului acestora. Cu toate acestea, însumând numărul

de produși obținuți la fiecare lot, de-a lungul tuturor celor trei grupuri experimentale, se poate observa că cei mai puțini pui au rezultat la loturile la care s-a alcalinizat pH-ul vaginal (37 pui). Acest lucru era de așteptat, din moment ce soluția folosită (tampon acid boric-borax) are o oarecare agresivitate cunoscută atât asupra mucoasei vaginale, cât și asupra spermatozoizilor din ejaculat. În cazul loturilor la care s-a acidifiat pH-ul vaginal s-au obținut 59 de produși, un număr foarte apropiat de cel obținut la loturile martor și anume 62. În acest caz nu se poate spune că manoperele efectuate pe lotul cu pH-ul vaginal acidifiat au influențat fertilitatea femelelor sau numărul produșilor obținuți la parturiție.

În cel de-al treilea grup experimental au apărut secreții cu aspect sangvinolent după ziua a 12-a de măsurare a pH-ului vaginal. Cu toate acestea, faptul că acestea au fost observate și la șoricioaicele din lotul martor demonstrează că nu efectuarea spălăturilor vaginale a fost cauza lor, ci probabil metoda folosită pentru măsurarea pH-ului vaginal.

Indiferent de grupul experimental de care este vorba sau de fertilitatea femelelor implicate, rezultatele obținute cu privire la influența pH-ului vaginal asupra raportului sexelor descendenților tind să confirme ipoteza de la care a pornit studiul și anume că acidifierea pH-ului vaginal determină nașterea mai multor descendenți masculi, pe când alcalinizarea acestuia determină nașterea mai multor femele.

Coroborând datele prezentate anterior se poate observa că, de fiecare dată când au putut fi observate rezultatele, raportul secundar al sexelor descendenților a fost influențat de modificarea pH-ului vaginal. Deși nu s-a reușit menținerea unui anumit pH vaginal în fiecare lot, variația acestuia fiind similară în toate cele trei loturi din fiecare grup experimental, în cazul loturilor cu pH-ul vaginal acidifiat proporția masculilor născuți cunoaște o creștere, care variază între 15,54% și 2,46%, față de lotul martor. Loturile la care s-a alcalinizat pH-ul au prezentat o scădere a proporției de masculi născuți, în comparație cu lotul martor, care a variat între 7,54% și 15,87%. Se poate observa că alcalinizarea pH-ului vaginal pare a avea un efect mai puternic asupra raportului secundar al sexelor, dar acest lucru poate fi datorat și pH-ului soluțiilor folosite, care a fost ridicat în cazul soluției alcaline. S-a optat pentru un pH neutru pentru lotul la care s-a acidifiat pH-ul vaginal (luând în calcul valoarea medie a pH-ului vaginal normal la șoricioaică, folosirea unei substanțe neutre determină acidifierea acestuia).

Mecanismele prin care variația pH-ului vaginal influențează raportul secundar al sexelor nu au fost elucidate, însă experimentul de față dovedește că o anumită influență există. În același timp, variația mare dintre rezultatele obținute în cadrul celor trei grupuri experimentale (de exemplu la loturile la care s-a acidifiat pH-ul s-a obținut o variație de 2,46% în al doilea grup experimental, față de

15,54%, procent obținut în al treilea grup experimental) denotă existența a numeroși alți factori care influențează raportul secundar al sexelor, factori care nu au putut fi identificați și controlați, pentru a asigura o omogenitate a rezultatelor obținute în diferite perioade.

CONCLUZII

În urma investigațiilor efectuate, s-au evidențiat următoarele concluzii:

- există numeroși factori, unii cunoscuți, care pot influența raportul secundar al sexelor;
- soluția tampon acid boric-borax 0,05M cu pH 9 a determinat scăderea numărului descendenților;
- alcalinizarea pH-ului vaginal la șoricioaice poate determina obținerea unui raport secundar al sexelor în favoarea femelelor, în cazul acestui experiment de până la 1:1,25;
- prin acidifierea pH-ului vaginal la șoricioaice este posibil să se obțină un număr mai mare de masculi, cu un raport secundar al sexelor de până la 1,5:1;
- mecanismul prin care modificarea pH-ului vaginal influențează raportul secundar al sexelor nu este cunoscut.

Bibliografie

1. Clark M, Karpiuk P, Galef BG. Hormonally mediated inheritance of acquired characteristics in Mongolian gerbils. *Nature*, 1993; 364: 712
2. Decsi T, Campony C, Koletzko B. Effect of N-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy: the Nuheal trial. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2005; 569: 109-113
3. Fisher ME. *Rep. Prog. Phys.* 1967; 30: 615, <http://iopscience.iop.org/0034-4885/30/2/306>
4. Grant JV, Chamley LW. Can mammalian mothers influence the sex of their offspring pre-conceptually? *Reproduction*, 2010; 140: 425-433
5. Helland IB, Saugstad OD, Smith L, et al. Similar effects on infants of n-3 and n-6 fatty acids supplementation to pregnant and lactating women. *Pediatrics*, 2001; 108
6. Helle S, Laaksonen T, Adamsson A, Paranko J, Huitus O. Female field voles with high testosterone and glucose levels produce male-biased litters. *Animal Behaviour*, 2008; 75: 1031-1039
7. Williams JH. Are there preconceptual determinants of mammalian sex? A response to Boklage. *Human Reproduction*, 2006; 21(10):2486-2490
8. Williams JH. Evidence that mammalian sex ratios at birth are partially controlled by parental hormone levels around the time of conception. *Journal of Endocrinology*, 2008; 198:3-15
9. Rivers J, Crawford M. Maternal nutrition and sex ratio at birth. *Nature*, 1974; 252: 297-298
10. Trivers RL, Willard DE. Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science*, 1973; 179: 90-92
11. Darwin C. *Descent of Man and Selection in Relation to Sex*, 1871