

Z danych zestawionych w tabeli 2 i 3 wynika, że zarówno nasienie transgenicznych i nietransgenicznych knurów charakteryzowało się niskim odsetkiem plemników apoptotycznych (YO-PRO-1⁺/PI⁻) oraz wczesnoapoptotycznych (Ann V-FITC⁺/PI⁻). Po zastosowaniu barwienia YO-PRO-1/PI nie wykazano statystycznie istotnych różnic w odsetku plemników apoptotycznych, nekrotycznych i żywych pomiędzy nasieniem transgenicznych i nietransgenicznych knurów. Jednocześnie po zastosowaniu barwienia aneksyną V-FITC i PI wykazano istotne różnice w odsetku plemników wczesnonekrotycznych (Ann V-FITC⁺/PI⁺) oraz nekrotycznych (Ann V-FITC⁺/PI⁺) pomiędzy nasieniem transgenicznych i nietransgenicznych knurów.

Z przeprowadzonych badań wynika, że wprowadzona modyfikacja genomu knurów przy użyciu transgeny pCMVFUT nie powoduje zaburzeń w procesie spermatogenezy i nie prowadzi do wzrostu odsetka plemników apoptotycznych w nasieniu.

Literatura: 1. Anzar M., He L., Buhr M.M., Kroetsch T.G., Pauls K.P., 2002 – Biol. Reprod. 66, 354-360. 2. Maleszewski M., Kuretake C., Evenson D., Yanagimachi H., Bjordahl J., Yanagimachi R., 1998 – Biol. Reprod. 58, 8-14. 3. Meliska C.J., Bartke A., 1997 – J. Androl. 18, 305-311. 4. Print C.G., Loveland K.L., 2000 – Bioessays 22, 423-430. 5. Pursel V.G., Bolt D.J., Miller K.F., Pinkert C.A., Hammer R.E., Palmiter R.D., Brinster R.L., 1990 – J. Reprod. Fert. (Suppl.) 40, 235-242. 6. Rexroad C.E., Hammer R.E., Bolt D.J., Mayo K.E., Frohman L.A., Palmiter R.D., Brinster R.L., 1989 – Mol. Reprod. Dev. 1, 164-169.

Polimorfizm białek zwierzęcych – krwi, mleka, nasienia, treści jaja

Joanna Szymańska, Jadwiga Miszkiewicz,
Daniel Rogoźnicki, Elżbieta Smalec

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

Podobnie, jak w innych dziedzinach życia, w nauce również zachodzą ciągle zmiany. Koniec wieku XIX i wiek XX przyniosły ogromny postęp nauki, zwłaszcza dzięki wielu wynalazkom umożliwiającym doskonalenie technik badawczych. Zanim nastąpił rozwój badań nad grupami krwi i polimorfizmem białek, kalkulację stopnia homozygotyczności opierano na cechach takich jak umaszczenie zwierząt lub niektórych cechach ilościowych, warunkowanych zwykle przez kilka genów, co zmniejszało dokładność oceny [58]. Polimorfizm genetyczny, czyli genetyczna wielopostaciowość, to występowanie dwóch lub więcej alleli tego samego genu w populacji, uwarunkowane genetycznie, hormonalnie lub środowiskowo. Polimorfizm dostarcza informacji dotyczących struktury różnych populacji, dzielącego je dystansu genetycznego, pozwala śledzić skutki selekcji, inbrodu, dryfu genetycznego oraz odpowiedzi populacji na zmiany zachodzące w środowisku [50, 59].

Od lat 50. ubiegłego stulecia prowadzone były badania nad markerami genetycznymi cech produkcyjnych zwierząt. Początkowo analizowano antygeny grupowe krwi, białka surowicy krwi i białka mleka. Przypuszczano, że na podstawie obecności różnych wariantów genetycznych białek można przewidzieć predyspozycje zwierzęcia do wysokiej produkcji mleka, mięsa czy jaj. Marker genetyczny to prosta cecha jakościowa, zauważalna w fenotypie osobnika lub dająca się łatwo zidentyfikować za pomocą metod analitycznych, na przykład elektroforezy, wyzna-

czana zazwyczaj przez geny sprzężone z grupą genów determinujących selekcjonowaną cechę ilościową. Markery genetyczne podlegają dziedziczeniu według praw Mendla, same nie wpływają na poziom cechy ilościowej, są z nią tylko związane przez lokalizację w tym samym chromosomie [28].

Rozwój nauk biologicznych w drugiej połowie XX wieku związany był z rozwojem genetyki molekularnej, izolowaniem i poznawaniem genów odpowiadających za różne funkcje komórek. Jednym z przełomowych momentów było opracowanie metody pozwalającej na szybkie i wydajne sekwencjonowanie, czyli odczytywanie kolejności nukleotydów decydującej o zapisie informacji genetycznej. Kolejnym etapem badania funkcjonowania genomu jest analiza białek w komórce. Dawniej badano związek polimorfizmu białek płynów ustrojowych z cechami produkcyjnymi zwierząt, obecnie bada się polimorfizm genów kodujących te białka. Pojęcie proteomiki, czyli analizy proteomu, zostało wprowadzone w połowie lat 90. i oznacza globalną analizę białek danej komórki lub organizmu. Termin proteom pochodzi od angielskiego określenia PROTein complement of the genOME. Proteomika łączy techniki służące do jednoczesnej analizy setek lub tysięcy białek zawartych w komórkach. Umożliwia to szybsze uzyskiwanie wyników, ale otrzymane w ten sposób dane są mniej szczegółowe niż te pochodzące z klasycznej analizy pojedynczych białek. Proteomika jest dziedziną znacznie szerszą i bardziej złożoną niż genomika, ponieważ genom jest obiektem zmieniającym się w bardzo małym stopniu, natomiast wachlarz białek obecnych w komórce zmienia się nieustannie wskutek interakcji z czynnikami środowiskowymi oraz z innymi komórkami w organizmie. Ekspresja białek w komórkach może być różna zależnie od lokalizacji, fazy cyklu komórkowego oraz warunków w otaczającym środowisku. Ponadto, białka są polimerami 20 różnych typów aminokwasów, natomiast DNA jest polimerem 4 różnych typów nukleotydów, dlatego też odmiany sekwencji są znacznie większe w przypadku białek.

ROZDZIAŁ BIAŁEK

Podstawą analiz proteomicznych są techniki pozwalające na identyfikację pojedynczych polipeptydów w mieszaninach zawierających tysiące różnych białek. Do rozdziału białek stosuje się

elektroforezę żelową. Przy złożonych mieszaninach najczęściej jest to elektroforeza dwukierunkowa, umożliwiająca rozdział nawet kilku tysięcy różnych polipeptydów. Elektroforeza jest zjawiskiem elektrokinetycznym, w którym pod wpływem pola elektrycznego przemieszczają się makrocząsteczki obdarzone niezrównoważonym ładunkiem elektrycznym. Prędkość przemieszczania się naładowanej elektrycznie cząsteczki zależy od jej ładunku, rozmiaru, kształtu oraz oporów ruchu środowiska.

Elektroforeza dwukierunkowa znana jest od ponad trzydziestu lat. Po znacznej modyfikacji w stosunku do techniki odkrytej przez Farrell i wsp. [14], znajduje ogromne zastosowanie jako jedna z podstawowych metod proteomiki.

Dawniej w procesie elektroforezy używano żelu skrobiowego. Badaczom udawało się wówczas zidentyfikować mniej frakcji, w związku z czym polimorfizm białek był mniejszy [54] albo nie stwierdzano istotnych różnic między białkami [2]. Rozwój metod elektroforetycznych pociągał za sobą zwiększenie dokładności rozdzielania białek, wobec czego następowała także zmiana ich nazewnictwa.

Pierwotnie obowiązywał podział na albuminy i transferyny, następnie przyjęto, że białka migrujące szybciej niż albuminy (ALB) określa się jako prealbuminy (PA), dzieląc je na szybko (PAF), średnio (PAM) lub wolno (PAS) migrujące, a migrujące wolniej od albumin – jako postalbuminy (POA). Białka migrujące szybciej od transferyny (TF) określono jako pretransferyny (PTF), a wolniej – jako posttransferyny (POTF) [7]. Nowsze metody elektroforetyczne pozwalają uzyskać na najczęściej stosowanym podłożu – żelu poliakrylamidowym, do kilkudziesięciu prążków [9]. Tak duża liczba prążków może nie być jednak należycie wykorzystana w badaniach genetyczno-populacyjnych, ze względu na możliwość błędnej identyfikacji poszczególnych fenotypów lub brak genetycznego modelu dziedziczenia fenotypów z danych regionów [10]. Wykorzystywane są także różnorodne techniki chromatograficzne, takie jak wysokosprawna chromatografia cieczowa (High Performance Liquid Chromatography; HPLC). Do identyfikacji rozdzielonych białek stosuje się metody opierające się na spektrometrii masowej (Mass Spectrometry; MS) [11].

POLIMORFIZM A WŁAŚCIWOŚCI BIAŁEK KRWI

Białka surowicy krwi, erytrocytów i leukocytów stanowią, obok antygenów erytrocytarnych, drugą co do wielkości grupę markerów genetycznych u zwierząt. Dla owiec istotnym markerem genetycznym jest poziom potasu w erytrocytach, kontrolowany przez dwa allele genu – dominujący i recesywny. W roku 1976 oznaczono elektroforetyczne warianty transferyny i hemoglobiny [61]. Wśród ras owiec hodowanych w Polsce polimorfizm transferyny obejmuje 5-8 alleli, co stwarza duże możliwości identyfikacji zwierząt [56]. Wyniki przeprowadzonych oznaczeń markerów genetycznych krwi, uzyskiwane w trakcie rutynowej kontroli pochodzenia, są również wykorzystywane w pracach z dziedziny genetyki populacji do badań struktury genetycznej różnych ras oraz zmienności genetycznej wewnątrz i między różnymi populacjami owiec, co jest wiarygodną metodą sprawdzenia rodowodów [46, 48, 56]. Wiarygodny wynik gwarantuje

użycie dużej liczby cech antygenowych oraz polimorficznych form białek [48]. U owiec najbardziej przydatne do badań zgodności rodowodów są grupy krwi, transferyna, albumina i hemoglobina. Uwarunkowany genetycznie polimorfizm, a także stałość fenotypowa w ciągu całego życia osobnika umożliwia określenie pochodzenia. W przeprowadzonych badaniach transferyny (TF) i hemoglobiny (HBB) u owiec rasy berrichone du cher wykazano, że prawdopodobieństwo wykluczenia podanego rodzica przy wykorzystaniu polimorfizmu TF i HBB wynosiło 0,92 [46]. Podobne badania wykonano na owcach ras: czarnogłówka, merynos polski, owca olkuska, polska owca długowłosa, polska owca górską, polska owca nizinna i wrzosówka. Prawdopodobieństwo wykluczenia rodzica w tych rasach wahało się od 0,9590 u czarnogłówki do 0,9830 u polskiej owcy górskiej [47]. Przeprowadzone badania dotyczyły polimorfizmu grup krwi, transferyny i hemoglobiny u owiec. Wyliczone prawdopodobieństwo, z jakim można wykluczyć niewłaściwego rodzica, wskazuje na dużą przydatność zastosowania analizowanych markerów genetycznych w kontroli rodowodów u podstawowych ras owiec hodowanych w Polsce.

Prawie stuprocentową gwarancję wydania prawidłowego orzeczenia umożliwia wykorzystanie wysokiego polimorfizmu wybranych sekwencji mikrosatelitarnych DNA. Ze względu na wysoki koszt badań DNA, kontrola wiarygodności rodowodów owiec w Polsce przeprowadzana jest obecnie na podstawie badania grup krwi oraz analizy genetycznej elektroforetycznych wariantów białek. Podstawą tej analizy jest fakt, iż geny warunkujące poszczególne warianty transferyny i hemoglobiny występujące u potomka muszą być obecne przynajmniej u jednego z rodziców [48].

Białka polimorficzne surowicy i erytrocytów krwi koni identyfikowane były w testach porównawczych Międzynarodowego Stowarzyszenia Genetyki Zwierząt (ISAG). Spośród białek surowicy krwi koni największą heterogenność wykazują inhibitory α -proteaz oraz transferyna. Elektroforetyczny wzór poszczególnych wariantów inhibitorów α -proteaz (PI) obejmuje od trzech do sześciu prążków. Odnotowano znaczne zróżnicowanie międzyrasowe w częstości występowania poszczególnych alleli PI [37]. W celu weryfikacji dokumentacji hodowlanej prowadzi się kontrolę rodowodów i identyfikację zwierząt, opierając się na badaniach wybranych markerów genetycznych krwi potomka i jego rodziców. Genetyczny polimorfizm transferyny u koni jest warunkowany przez minimum 13 alleli [5]. Schmid i wsp. [49] zidentyfikowali allel zerowy. Spośród siedmiu enzymów zidentyfikowanych w leukocytach krwi koni, genetyczny polimorfizm wykazują: fosfoglukomutaza I, α -fukozydaza, peptydaza i izomeraza fosfomannozy. Badania polimorfizmu białek zaowocowały identyfikacją puli markerów genetycznych, która obejmuje łącznie około 100 alleli w 28 loci [45].

Polimorfizm białek krwi wykorzystano w poszukiwaniu metody wczesnego rozpoznania potencjalnej wartości użytkowej koni [38]. Umożliwia on określenie zależności między fenotypem danego białka a dzielnością użytkową ogierów. Cennych informacji dostarcza poznanie markerów genetycznych, do któ-

rych zaliczamy między innymi polimorficzne białka osocza krwi. Zbiór określonych fenotypów białek danego osobnika stanowi według Kamińskiego [24] „genetyczny podpis”, czyli hemotyp. Hemotypy są wykorzystywane głównie do charakterystyki różnicowania genetycznego koni poszczególnych ras lub typów [23, 24]. Stwierdzono, że hemotyp ogiera o najwyższej wartości użytkowej powinien składać się z heterozygotycznych układów białek krwi [38].

Pierwsze wyniki polimorfizmu białek krwi u lisów zostały opublikowane przez Kamińskiego i Balbierza w 1965 roku [21]. Autorzy wyróżnili proteiny poprzez elektroforezę na żelu skrobiowym i zaklasyfikowali zaobserwowane polimorficzne formy do dwóch układów. W 1966 roku Kamiński i wsp. [22] określili osiem różnych genotypów transferyn składających się z czterech – pięciu stref o różnej intensywności zabarwienia. Ci sami autorzy zademonstrowali obecność naturalnych przeciwciał w surowicy krwi lisów, zarówno dla aglutynin i hemolizyn. Balbierz i wsp. [3] wskazali możliwość użycia polimorfizmu transferyn do określania pochodzenia potomstwa jednego samca i dwóch samic z różnymi genotypami. Badania zostały przeprowadzone w taki sposób, aby otrzymać fenotypowe różnicowanie dowodzące ojcostwa. W celu dodatkowej kontroli zostały określone fenotypy kwaśnej fosfatazy komórek krwi. Autorzy wykazali, że polimorfizm transferyn i kwaśnej fosfatazy czerwonych krwinek może zostać użyty w pracy hodowlanej do wykluczenia ojcostwa. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że pojedyncze allele układów polimorficznych, takich jak: α 1B-glikoproteiny, pretransferyny i transferyny, mogą zostać użyte jako markery genetyczne określające rodowód we wszystkich rodzajach krzyżowania pomiędzy lisem pospolitym i polarnym.

Zjawisko polimorfizmu białek surowicy krwi wykorzystano w badaniach mających na celu charakterystykę i porównanie gęsi z grup zachowawczych i rezerwowych [51]. Wyróżniono 17 polimorficznych regionów i stwierdzono, że największe podobieństwo cech wykazały gęsi lubelskie, kieleckie i podkarpackie. Gęsi kartuskie i pomorskie cechowała zbliżona częstotliwość fenotypów białek strukturalnych surowicy krwi [51]. Mueller i Ayala [33], badając różnymi metodami międzygatunkowe odległości genetyczne, stwierdzili, że błąd oszacowania jest bardzo duży, jeżeli liczba *loci* wynosi 5, zaś wartość jest poprawna, jeśli ocenianych jest 15 lub więcej frakcji. Najbardziej charakterystyczną frakcją u gęsi jest PASG, jest to rejon występujący tylko u tego gatunku. Rejony albumin i transferyn wśród wszystkich badanych ras charakteryzowały się jedną formą fenotypu. Natomiast Przytułski [40] stwierdził polimorfizm w rejonie transferyn. Brodacki [7] w rejonie transferyn zaobserwował 2 fenotypy (dwuprążkowy i trójprążkowy), zaś albuminy potraktował jako monomorficzne, stwierdził też monomorfizm u przepiórki japońskiej i indyków w obrębie albumin i transferyn. Najbardziej wiarygodne są modele dziedziczenia opracowane na podstawie analizy fenotypów rodziców i potomstwa [7]. Okamoto i wsp. [35] dokonali elektroforetycznego rozdziału białek surowicy krwi u ras kur pochodzących z Laosu i stwierdzili polimorfizm tylko w 7 *loci*. Tanabe i Shinjo [55] przeprowadzili badania filogenetycznych zależności pomię-

dzy 19 japońskimi rasami kur oraz 4 populacjami importowanymi z Europy, analizując 8 polimorficznych *loci* białek surowicy krwi. Stwierdzili bliskie pokrewieństwo między rodzimymi rasami kur oraz pomiędzy rasami leghorn i rhode island red oraz plymouth rock i cornish. Polimorfizm cech biochemicznych białek jaja i osocza krwi u 15 ras kur został określony przez Moiseyeva i wsp. [31]. Oszacowane parametry, takie jak: dystans genetyczny, frekwencje alleli i średnia heterozygotyczność, wykazały znaczące różnicowanie genetyczne pomiędzy rasami kur typu nieśnego, ogólnoużytkowego oraz mięsnego. Stwierdzono ponadto, że częstotliwość rzadkich alleli oraz poziom średniej heterozygotyczności na *locus* zwiększa się wraz ze wzrostem masy ciała kur.

POLIMORFIZM A WŁAŚCIWOŚCI BIAŁEK MLEKA

O wartości odżywczej mleka decyduje przede wszystkim ogólna zawartość białka, natomiast o jego przydatności technologicznej – udział odpowiednich, uwarunkowanych genetycznie frakcji występujących w różnych formach jakościowych [27]. Jest to zjawisko dziedziczne, określane polimorfizmem genetycznym białek [13].

Rezultaty wielu badań potwierdzają występowanie istotnych zależności pomiędzy polimorficznymi postaciami białka mleka a jego wydajnością, składem chemicznym, właściwościami fizykochemicznymi, przydatnością technologiczną oraz wydajnością gotowych produktów mleczarskich [15, 16, 17, 29, 42, 43, 44]. Wyniki badań, w których poszukiwano prostych zależności pomiędzy genami białka mleka a genami ilościowymi są często ze sobą sprzeczne. Wiąże się to m.in. z wielogenowym wpływem na te cechy oraz faktem, że geny te leżą na różnych chromosomach [13].

Białkiem mleka, które wzbudza największe zainteresowanie wśród badaczy jest κ -kazeina CSN3 [28]. Jej genetyczne warianty łączone są z cechami użyteczności mlecznej oraz przydatnością mleka do przetwórstwa, a w szczególności do produkcji serów [4, 16, 43]. Wykazano, że mleko z typem B κ -kazeiny odznacza się wyższą zawartością białka, tłuszczu i białek serwatkowych oraz lepszymi parametrami skrzepu kazeinowego i procesu krzepnięcia, co sprawia, że jest ono bardziej przydatne do produkcji serów niż mleko z typem A κ -kazeiny [15, 16, 44, 53, 57, 60]. Zdaniem wielu autorów [4, 15, 17], mleko pozyskiwane od krów o genotypie CSN3 BB i AB, w porównaniu z krowami o genotypie AA, odznacza się krótszym o 10-30% czasem koagulacji, większą o 20-100% zwięzłością powstałego skrzepu i wyższą stabilnością termiczną oraz wydajnością świeżego i dojrzalego sera typu parmezan i cheddar o około 5-8%.

Większość autorów podkreśla silny wpływ na zawartość składników mleka wariantów genetycznych innego białka, mianowicie β -laktoglobuliny (LGB), choć otrzymane przez nich wyniki nie zawsze są zgodne [28]. Przeważa pogląd, że wyższą wydajnością mleka charakteryzują się zwierzęta o genotypie β -LG AA, natomiast wyższym procentem tłuszczu, białek serwatkowych – mleko zwierząt o genotypie β -LG BB [44]. Feleniczak i wsp. [16], badając wpływ polimorfizmu LGB na właściwości mleka pod kątem jego przydatności do przetwórstwa, wyka-

zali, że mleko pochodzące od krów o genotypie LGB BB cechuje się najniższym czasem krzepliwości i wyższą zawartością wapnia, a Miciński i Klupczyński [29] ocenili na około 5% wyższą wydajność sera z mleka krów o typie LGB B w porównaniu z jej wariantem A. Innego zdania są Czerniawska-Piątkowska i Kamieniecki [13], twierdząc, że mleko pochodzące od krów o genotypach LGB AA to surowiec o wyższej zawartości białek serwatkowych i białka ogólnego, a czas tworzenia skrzepu kazeinowego jest krótszy. Badania Pytlewskiego i wsp. [41] nie ujawniły natomiast istotnych zależności między polimorficznymi wariantami białek kazeinowych a wydajnością i składem mleka w badanej populacji krów czarno-białych.

Niektórzy autorzy sugerują, że istnieją pewne zależności między formami polimorficznymi β -LG, a odpornością krów na *mastitis*. Przeważnie wariant BB β -LG kojarzony jest z mniejszą zawartością komórek somatycznych [28]. Wyniki badań Felańczak i wsp. [15] wskazują, że istnieje możliwość wykorzystania polimorfizmu κ -kazeiny jako dodatkowego kryterium doboru rozplodników w stadach bydła mlecznego. W niedalekiej przyszłości należy spodziewać się dużych nacisków ze strony przetwórstwa mleczarskiego, aby do hodowli wybierać krowy i buhaje o genotypach CSN3 BB lub w ostateczności CSN3 AB [13], a genotyp CSN3 BB uznać za ekonomiczne kryterium w doskonaleniu przydatności technologicznej mleka do celów serowarskich [42]. Obecnie w Holandii, Francji i innych krajach proponuje się sprzedaż nasienia buhajów mających w swoim genotypie κ -kazeinę B [57].

Cechy genetyczne zwierząt warunkują jedynie możliwości produkcji, ale wykorzystanie określonego potencjału genetycznego danego zwierzęcia zależy głównie od czynników pozagenetycznych [16]. Owce z genotypem α_{s1} -CN CC zarówno pod względem długości trwania laktacji, wydajności, jak i właściwości chemicznych (procentowa zawartości tłuszczu i białka) i technologicznych mleka (struktura skrzepu i właściwości koagulacyjne) charakteryzują się lepszymi parametrami w porównaniu do owiec o innych genotypach [12, 32, 39]. Natomiast badania dotyczące oddziaływania polimorfizmu beta-LG na właściwości mleka owiec wskazują na przewagę genotypu BB nad innymi wariantami genetycznymi tego białka [32]. Ponadto lepszą przydatność technologiczną mleka do produkcji serów podpuszczkowych zaobserwowano u owiec z genotypem AA i BB beta-LG [32], a serów serwatkowych – z genotypem AB niż genotypów homozygot [26]. Dodatkowo istnieje zależność pomiędzy polimorfizmem beta-LG a ilością mleka potrzebnego do wyprodukowania 1 kg sera [1]. Nudda i wsp. [34], badając stado mlecznych owiec sarda, zaproponowali, aby gen beta-LG mógł być użyty jako marker QTL (quantitative trait loci) dla cech produkcji mleka.

POLIMORFIZM BIAŁEK NASIENIA

Plazma nasienia zawiera zarówno składniki organiczne, jak i nieorganiczne. Spośród związków organicznych białka mają największy procentowy udział. Najważniejszą rolą białek plazmowych jest ochrona plemników, co warunkuje zdolność zapładniającą plemników i decyduje o płodności samca. Coraz częściej dokonuje się identyfikacji i powiązania białek plazmy

nasienia z płodnością. Synteza białek nasienia związana jest z jądrami, najądrzami i dodatkowymi gruczołami płciowymi [25]. W ostatnim okresie uzyskano interesujące rezultaty badań wskazujące, że niektóre białka plazmowe determinować mogą płodność buhajów, ogierów i knurów [25]. Obserwowane zjawisko wskazywać może na sezonową zmienność w zakresie aktywności translacyjnej dodatkowych gruczołów płciowych knura. Należy nadmienić, iż ejakulatory kolekcjonowane w miesiącach letnich charakteryzują się obniżoną jakością, natomiast jesienią wykazują najwyższą wartość biologiczną. Stwierdzono, że zmodyfikowana metoda elektroforezy dwukierunkowej może być z powodzeniem stosowana w analizie białek plazmy nasienia knura [25]. Uwarunkowany wiekiem knurów i porą roku polimorfizm map polipeptydowych plazmy nasienia może być wykorzystany jako marker molekularnych zmian aktywności sekrecyjnej dodatkowych gruczołów płciowych. Stanowi to istotny wyznacznik kwalifikacji samców do rozrodu [25].

Stasiak i wsp. [52] przeprowadzili ocenę składu białkowego plazmy nasienia lisa polarnego przy użyciu metod elektroforetycznych. Z elektroforegramu wyznaczono masy cząsteczkowe rozdzielonych frakcji białkowych oraz oznaczono gęstość optyczną prążków białkowych. Analiza polimorfizmu wykazała podobieństwo w profilach białkowych plazmy nasienia pozyskanej od samców zarówno na początku, jak i na końcu sezonu rozrodczego. Na elektroforegramie przedstawiającym białka nasienia z początku sezonu rozrodczego, wśród wszystkich dziesięciu frakcji białkowych w badanych plazmach, największy udział miało białko o niskiej masie cząsteczkowej. Pod koniec sezonu zidentyfikowano obecność ośmiu frakcji białkowych. Stwierdzono, że w plazmie nasienia z ejakulatów pobranych pod koniec sezonu rozrodczego jest mniej frakcji białkowych o wysokiej masie cząsteczkowej. Pod koniec sezonu reprodukcyjnego, obok wyraźnego obniżenia aktywności antytrypsynowej, w plazmie nasienia odnotowano także zanik formy o najwolniejszym tempie migracji. Ilościowy spadek form można tłumaczyć zmniejszoną syntezą tych białek w układzie rozrodczym lub zachodzącą już częściowo proteolizą. Badania polimorfizmu białek pozwolą na wyszukanie w plazmie nasienia odpowiedniego markera – wskaźnika potencjalnej płodności [52].

Badania polimorfizmu białek istotne są również w badaniach populacji zwierząt zagrożonych homozygotycznością. Hodowla gatunków zwierząt zagrożonych wyginięciem wymusza stosowanie daleko posuniętego chowu wsobnego. Prowadzi to do ciągłej utraty genów, a co za tym idzie, ujawniają się głębsze przemiany. Zmiany w najądrzach i wnętrostwie stwierdzone u żubrów dowodzą, że procesy spowodowane homozygotycznością wzrastają, co stanowi poważne zagrożenie całej populacji tych zwierząt [18]. Badania polimorfizmu białek gepardów w Afryce Południowej wykazały, że zwierzęta były wyraźnie genetycznie zubożone. Badane samce miały około 70% plemników różnie zmodyfikowanych i zdeformowanych. Odbija się to na rozrodczości gepardów, a śmiertelność nowo narodzonych sięga nawet 70%. Podobne zaburzenia w rozmnażaniu się występują u takich gatunków, jak puma, lew czy antylopa afrykańska [18].

POLIMORFIZM A WŁAŚCIWOŚCI BIAŁEK TREŚCI JAJA

Wyniki badań polimorfizmu białek zarówno krwi, jak i treści jaj ptaków mogą być wykorzystane do genetycznej charakterystyki stad lub jako wskaźniki selekcyjne w programach hodowlanych, jeśli stwierdzona zostanie zależność między określonymi wariantami genetycznymi białek a cechami użytkowymi [8]. Analizy polimorfizmu białek jaja populacji 12 lokalnych ras kur w Indonezji przeprowadzili Inafuku i wsp. [19]. W wyniku elektroforetycznego rozdzielenia białka wykazano polimorfizm w 5 *loci*. Pozwoliło to na obliczenie odległości genetycznych w grupach doświadczalnych. Współczynnik średniej heterozygotyczności na podstawie 6 polimorficznych *loci* białka jaja oraz osocza krwi określili Mina i wsp. [30]. Analizą objęto zimbredowane i niezimbredowane linie rasy white leghorn i australorp. Wszystkie *loci* były polimorficzne u linii niezimbredowanych. Oszacowany poziom heterozygotyczności u linii zimbredowanych był zdecydowanie większy od wartości oczekiwanych. Brodacki [9] przeprowadził badania, których celem było określenie częstości występowania fenotypów wybranych białek treści jaja indyków oraz genów warunkujących ich polimorfizm. Ponadto przeanalizował zależność między polimorficznymi formami białek treści jaja a masą jaj kur ze stad zachowawczych. Wyniki tych badań wskazują, że zwierzęta o fenotypie owoalbumin B znosiły jaja cięższe w porównaniu do jaj kur o fenotypie AB. Brodacki i wsp. [6] wykazali u indyków związek pomiędzy genetycznymi formami wolnomigrujących prealbumin a masą ciała, mięsa i tłuszczu w tuszce. Ptaki z genotypem PTF BB charakteryzowały się istotnie niższą wartością cech reprodukcyjnych niż indyczki innych genotypów. Indyczki o genotypach PTF BB osiągały dojrzałość istotnie później, aniżeli pozostałe ptaki. Ponadto składały o 28 jaj mniej, niż indyczki o genotypie PTF AA. Indyczki o genotypie PTF AB posiadały pośrednie wartości tych cech. W odniesieniu do cech reprodukcyjnych niższy współczynnik wylęgowości jaj zaobserwowano u indyczek o genotypie PTF BB, niż PTF AA. Zbliżone różnice parametrów produkcyjnych u ptaków badanych rodów z różnymi genotypami określającymi białka z podregionów pretransferyny wskazywać mogą na plejotropowe działanie genów. Autorzy wskazują, że eliminacja allelu niekorzystnie wpływającego na cechy reprodukcyjne, poprzez usunięcie ze stada wszystkich ptaków z genotypami PTF AB i PTF B, jedynie nieznacznie może podnieść wartości tych cech z powodu niskiej częstotliwości allelu PTF B u niektórych rodów indyków. Jednak analizowany przez Jankowskiego [20] ród indyków J-44, gdzie nie odnotowano występowania allelu PTF B, charakteryzował się znacznie wyższymi cechami reprodukcyjnymi.

Literatura: 1. Anton I., Zsolnai A., Kukovics S., Molnar A., Fesus L., 1998 – REU Technical Series 50, 224-226. 2. Baker C.M.A., Hanson H.C., 1966 – Comp. Biochem. Physiol. 17, 997-1006. 3. Balbierz H., Nikołajczuk M., Gut-Koryzna W., 1977 – Prace i Mat. Zoot. 13, 15-20. 4. Bech A.M., Kristiansen K.R., 1990 – J. Dairy Sci. 57 (1), 53-62. 5. Bell K., Pollitt C.C., Patterson S.D., 1988 – Anim. Genet. 19, 177-183. 6. Brodacki A., Głuchowski W., 1989 – Rocz. Nauk Rol., t. 104, z. 4, 33-39. 7. Brodacki A., 1991 – Rozprawy Naukowe 142, AR Lublin. 8. Brodacki A., 1994 – Prace i Mat. Zoot., Zesz. Spec.3, 53-55. 9. Brodac-

ki A., Jankowski J., Faruga A., 1995 – J. Anim. Feed Sci. 4, 55-62. 10. Brodacki A., Zięba G., Cywa-Benko K., 2001 – Elect. J. P. Agric. Univ., Anim. Husb. 4, 2. 11. Brown T.A., 2009 – Genomy. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa. 12. Chianese L., Garro G., Mauriello R., Laezza P., Ferranti P., Addeo F., 1996 – J. Dairy Res. 63, 49-59. 13. Czerniawska-Piątkowska E., Kamieniecki H., 2004 – Med. Wet. 7 (60), 692-694. 14. Farrell P.H., 1975 – J. Biol. Chem. 250, 4007-4021. 15. Feleńczak A., Gil Z., Ormian M., 2000 – Rocz. Nauk. Zoot., Supl., z. 8, 9-13. 16. Feleńczak A., Ormian M., Adamczyk K., 2005 – Wiad. Zoot. 2, 69-72. 17. Fertig A., Feleńczak A., 2003 – Zesz. Nauk. Przeg. Hod. 69, 65-70. 18. Gill J., 2002 – Kosmos 51, 4, 483-489. 19. Inafuku K., Maeda Y., Okamoto S., Ardinarsasi S.M., Hashiguchi T., 1998 – Japan. Poult. Sci. 35, 278-284. 20. Jankowski J., 1989 – Acta Acad. Agric. Techn. Olst., Zoot. 31, Suppl. B, 3-56. 21. Kamiński M., Balbierz H., 1965 – Proc. IXth European Animal Blood Groups Conference, Prague, 337-341. 22. Kamiński M., Podliachouk L., Nikołajczuk M., Balbierz H., 1966 – Proc. Xth European Conference on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism, Paris, 315-318. 23. Kamiński M., 1982 – Biochem. Systematics and Ecology 10 (4), 377-385. 24. Kamiński M., 1984 – Comp. Biochem. Physiol. B 79 (1), 61-66. 25. Kordan W., Strzeżek J., Soliwoda D., Leczewicz M., Mogielnicka M., 2008 – Med. Wet. 2 (64), 223-226. 26. Korman K., Pakulski, T., Mroczkowski S., Dulewicz R., 2002 – Prace i Mat. Zoot., Zesz. Spec. 14, 85-92. 27. Litwińczuk A., Barłowska J., 1998 – Mat. VI Szkoły Zimowej, Kamianna, 15-22.03., Kraków, 290-300. 28. Litwińczuk A., Barłowska J., Król J., Litwińczuk Z., 2006 – Med. Wet. 1 (62), 6-10. 29. Miciński J., Klupczyński J., 2006 – Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, vol. 15/56,SI 1,137-143. 30. Mina N.S., Sheldon B.L., Yoo B.H., Frankham R., 1991 – Poult. Sci. 70,1864-1872. 31. Moiseyeva I.G., Volokhovich V.A., Tolokonnikova E.V., Altukhov Y.P., 1984 – Genetika 20, 672-681. 32. Mroczkowski S., Korman K., Erhardt G., Piwczyński D., Borys B., 2004 – Arch. Tierz., Dummerstorf 47, Special Issue, 114-121. 33. Mueller L.D., Ayala F.J., 1982 – Genet. Res. Camb. 40, 127-137. 34. Nudda A., Feligni M., Battacone G., Campus R., Pulina G., 2000 – Zootecnica E Nutrizione Animale 26, 137-143. 35. Okamoto S., Tsunekawa Y., Kawamoto R., Worawut R., Kawale Y., Maeda T., Nishida T., 1999 – Asian-Australas. J. Anim. Sci. 12, 1011-1014. 36. Okamoto S., Inafuku K., Ting Z., Maeda Y., Hou D., Tang Y.F., Yun Z.H., Xu W., Shi L., Hashiguchi T., 2003 – Anim. Sci. J. 74, 471-476. 37. Patterson S.D., Bell K., 1987 – Anim. Genet. 18, 167-180. 38. Pikuła R., Smugała M., Borowiec-Chłopek Ż., 2006 – Prace i Mat. Zoot., Zesz. Spec. 16. 39. Pirisi A., Fraghi A., Piredda G., Leone Z.P., 1998 – EAAP Publ 95, 553-555. 40. Przytułski T., 1981 – VI Int. Symp. Actual Problems of Avian Genetics, Smolenice, 219-221. 41. Pytlewski J., Dorynek Z., Antkowiak I., 2000 – Rocz. AR Poznań, CCCXXX, 113-125. 42. Pytlewski J., Antkowiak I., Dorynek Z., 2000 – Rocz. AR Poznań, CCCXXX, Zoot., 52, 89-98. 43. Pytlewski J., Antkowiak I., Dorynek Z., 2001 – Zesz. Nauk. Przeg. Hod. 69, 213-221. 44. Pytlewski J., Antkowiak I., 2003/2004 – Rocz. AR Poznań, CCCLXVI, 29-41. 45. Putt W., Fisher R.A., 1979 – Anim. Blood Groups Biochem. Genet. 10, 191-197. 46. Rychlik T., Radko A., Duniec M., 2003 – Med. Wet. 11 (59), 1016-1018. 47. Rychlik T., Kościelny M., 2006 – Rocz. Nauk. PTZ 2 (2), 27-35. 48. Rychlik T., Krawczyk A., 2008 – Wiad. Zoot. 2 (XLVI), 3-8. 49. Schmid D.O., Ek N., Braend M., 1990 – Anim. Genet. 21, 423-426. 50. Słota E., 1998 – Rocz. Nauk. Zoot., Rozprawy Naukowe 7, 1-58. 51. Smalec E., 1991 – Zesz. Nauk. Drob. 3, 3-87. 52. Stasiak K., Janicki B., Kowalski R., Głogowski J., 2008 – Med. Wet. 11 (64), 1340-1343. 53. Strzałkowska N., Krzyżewski J., Ryniewicz Z., 2000 – Prace i Mat. Zoot. 56, 107-119. 54. Tanabe Y., Mizutani M., 1980 – Japan. Poult. Sci. 17, 116-121. 55. Tanabe Y., Shinjo A., 1988 – Proc. XVIII World's Poultry Congress and Exhibition, Nagoya, 535. 56. Trela J., Filipczuk U., 1985 – Sprawozdanie z tematu nr 7163, IZ Kraków. 57. Wątrobińska K., Nałęcz-Tarwacka T., 2007 – Przeg. Mlecz. 6, 10-12. 58. Wojdak-Maksymiec K., 2000 – Przeg. Hod. 11, 16-20. 59. Zawadzka M., 2000 – Biotechnologia 4 (51), 62-79. 60. Ziemiński R., Juszcak J., Walawski K., 2002 – Ann. Anim. Sci. 2 (1), 29-40. 61. Żur F., Trela E., 1983 – Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 265, 215-218.