

Niemcy) 15, 103-107. **3. Brzozowski M., Strzemecki P.**, 2013 – Ann. Warsaw Univ. of Life Sci. – SGGW, Anim. Sci. 52, 7-12. **4. Kołodziejek M.**, 2013 – Skuteczność zastosowania dodatku biologicznie obojętnej włókna w żywieniu królików na przebieg wzrostu i rozwoju użytkowania rzeźnego. Praca mgr, SGGW. **5. Koskinen N., Sepponen J., Rekilä T.**, 2009 – Scientifur 33, 3. **6. Kwieciński P., Nowak T.**, 2011 – Seminarium De Heus Poland, Licheń Stary, 3.11.2011. **7. Michurska E.**, 2011 – Efektywność działania preparatu prebiotycznego na użytkowanie królików z uwzględnieniem wcześniejszego terminu odsadzania młodych. Praca mgr, SGGW. **8. Prost E.K.**, 1999 – Med. Weter. 55, 2, 75-79. **9. Rettenmaier**, 2010 – Materiały promocyjne. Rettenmaier Polska

Sp. z o.o. **10. Rokicka-Ciasnocha A.**, 2010 – Wpływ preparatu zawierającego *Bacillus cereus* jako czynnika probiotycznego na wyniki odchowu oraz przebieg wzrostu i rozwoju młodych królików rzeźnych. Praca doktorska, SGGW. **11. Sikorska A.**, 2007 – Wpływ zastosowania probiotyku Toyoceryna na wyniki użytkowania królików rasy białej nowozelandzkiej. Praca mgr, SGGW. **12. Strzemecki P.**, 2013 – Efektywność zastosowania preparatu probiotycznego na wyniki użytkowania rzeźnego królików. Praca mgr, SGGW. **13. Śliżewska K., Biernasiak J., Libudzisz Z.**, 2006 – Chemia Spożywcza i Biotechnologia 70, 70-79. **14. Wilms B., Torzyński G.**, 2011 – Seminarium De Heus Poland, Licheń Stary, 3.11.2011. **15. Ząbek K.**, 2008 – Przegląd Hod. 4, 10-12.

Evaluation of feed additives in the feeding of young rabbits

Summary

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of three different feed additives – a probiotic (Toyocerin), a prebiotic (Progut), and biologically neutral crude fibre (Arbocel) – in the diet of young rabbits. The research was carried out at the experimental farm of the Fur and Small Animals Division of the Warsaw University of Life Sciences (SGGW). The additives used were found to improve the survival rate of the young rabbits. Furthermore, the probiotic played a positive role as a factor increasing the absorptive surface of the intestinal epithelium. No positive effects were found on other indicators, such as feed conversion, weight gain or dressing percentage.

KEY WORDS: probiotics, prebiotics, crude fibre, young rabbit feeding



Zachowanie różnorodności genetycznej w populacjach o kontrolowanym rozrodzie

Elżbieta Michalska, Wanda Olech

Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt SGGW w Warszawie

Różnorodność genetyczna jest cenną właściwością populacji zwierzęcych, a właściwie wszystkich populacji żywych organizmów. W populacjach żyjących w warunkach naturalnych umożliwia elastyczną reakcję organizmów na nagły stres środowiskowy, a w dłuższej perspektywie możliwość przystosowania do zmieniających się warunków środowiskowych, czyli jest podstawą działania selekcji naturalnej. W populacjach użytkowanych przez człowieka pozwala na prowadzenie selekcji kierunkowej i uzyskiwanie poprawy przeciętnej wartości genetycznej cech wpływających na ekonomikę produkcji zwierzęcej. Zmienność w obrębie danego genu (polimorfizm) zmniejsza częstość ujawniania się niepożądanego efektu recesywnych mutacji szkodliwych (np. mutacji letalnych).

Niewątpliwie pierwotną przyczyną różnorodności genetycznej są mutacje. Jakkolwiek częstość mutacji w danym miejscu genu jest mała (prawdopodobieństwo to szacuje się na 10^{-4} do 10^{-6}), to rozległość genomu (liczba nukleotydów) z jednej strony i liczebność populacji (duża dla większości żyjących gatunków) z drugiej,

powodują, że mutacje wywołują i podtrzymują zróżnicowanie genetyczne. Natomiast właściwości rozmnażania płciowego (łączenie gamet pochodzących od zróżnicowanych genetycznie rodziców) oraz rekombinacje genetyczne *loci* sprzężonych stwarzają szansę bezustannego w ciągu pokoleń, tworzenia zmiennych konfiguracji alleli.

Rozpoznane są trzy zasadnicze procesy wpływające na utratę różnorodności genetycznej populacji. Jednym z nich jest selekcja kierunkowa, polegająca na wyborze osobników rodzicielskich o skrajnych wartościach cechy (cech). Przyjmuje się, że wybór ten sprzyja faworyzowaniu alleli o korzystnym efekcie działania kosztem innych, których częstość maleje z pokolenia na pokolenie. Granicą jest wyczerpanie zmienności genetycznej, której fenotypowym skutkiem jest brak dalszej reakcji na selekcję. Granicę selekcyjną obserwowano w wielu doświadczeniach selekcyjnych prowadzonych na zwierzętach laboratoryjnych po zmiennej liczbie pokoleń zależnej od cechy – kryterium selekcji, wielkości populacji i intensywności selekcji.

Innym procesem, który może doprowadzić do zaniku zmienności genetycznej, jest pojawienie i narastanie poziomu inbrodu na skutek kojarzeń w pokrewieństwie, które nie są zamierzone, ale wynikają z niewielkiej liczebności populacji i długotrwałego (wielopokoleniowego) utrzymywania tych populacji w obiektywnie wymuszonej lub intencjonalnej izolacji. Szansą na spowolnienie tempa utraty zmienności genetycznej w tej sytuacji jest sterowanie rozrodem i opracowanie systemu kojarzeń minimalizującego spokrewnienie osobników rodzicielskich. Przykładem takich populacji są gatunki zagrożone wyginięciem, rasy zwierząt gospodarskich, które utraciły znaczenie w produkcji zwierzęcej, tworzone nowe rasy lub odmiany zwierząt domowych i/lub amatorskich oraz populacje doświadczalne utrzymywane w warunkach kontrolowanych (laboratoryjnych).

W przypadku tych populacji wzrasta prawdopodobieństwo skutków trzeciego z omawianych procesów, a mianowicie dryfu genetycznego. Dryf prowadzi do utraty różnorodności i wzrostu inbrodu, w czym upodabnia się do skutków kojarzeń w pokrewieństwie. Jego prawdopodobieństwo jest tym większe, im bardziej populacja narażona jest na przechodzenie przez „wąskie

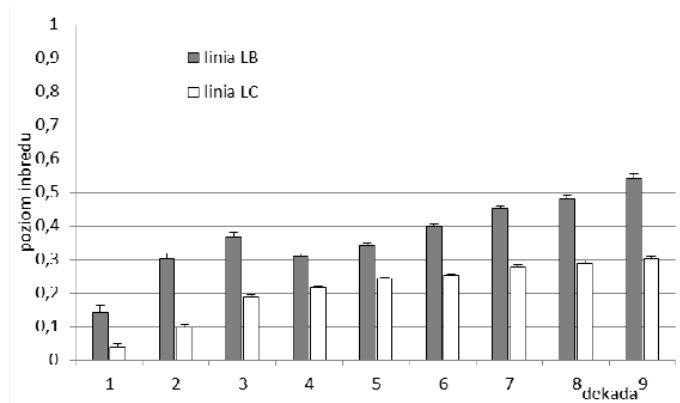
gardło” (okresowe drastyczne zmniejszenie liczebności trwające jedno lub kilka pokoleń) lub niewielką liczbę (frakcję) osobników pozostawiających po sobie potomstwo.

W pracy przedstawiono dwa przykłady populacji o ograniczonej liczebności: obiektywnie wymuszonej (gatunek chroniony – żubr) oraz intencjonalnej (populacja doświadczalna – przepiórka japońska) wraz z przyjętym programem postępowania mającym na celu zachowanie różnorodności genetycznej.

Program unikania wzrostu inbrodu w populacji żubra

Żubr (*Bison bonasus*) to gatunek, który w pierwszej połowie XX w. przeszedł przez bardzo wąskie gardło, gdyż w 1924 roku jego populacja liczyła 54 osobniki (29 samców i 25 samic), wywodzące się od 23 niespokrewnionych założycieli. Aż 11 założycieli zostało utraconych z puli genowej gatunku [5] i obecna populacja wywodzi się tylko od 12 z nich. Żubry dzielą się na dwie linie genetyczne: jedna – zwana nizinną (LB), wywodzi się od siedmiu przodków podgatunku nizinnego, a druga – zwana nizinno-kaukaską (LC), wywodzi się od wszystkich 12 założycieli, wśród których jest jeden samiec podgatunku kaukaskiego. Kwestia ograniczonej zmienności genetycznej i minimalizacji poziomu inbrodu jest dla tego gatunku bardzo ważna [8]. W niewoli utrzymywanych jest aktualnie około 1500 żubrów, przy czym linia LB stanowi około 25% tej populacji, a zwierzęta przebywają w 200 ośrodkach w całej Europie. Dla całej populacji prowadzona jest analiza rodowodowa, dostarczająca informacji o poziomie współczynnika inbrodu, spokrewnieniu zwierząt, o udziale założycieli i unikalności genetycznej osobników. Na podstawie przeprowadzonych analiz rodowodów przygotowywane są w Katedrze Genetyki i Ogólnej Hodowli SGGW zalecenia wskazujące na wartościowe do hodowli osobniki i na potrzebne zmiany w danym ośrodku. W opracowanych zasadach nie dopuszcza się do kojarzeń w bliskim pokrewieństwie. Realizacja zaleceń zależna jest od możliwości hodowców, ale w większości przypadków właściciele stad żubrów postępują zgodnie z zaleceniami. Dużym problemem w zastosowaniu wyników analiz rodowodowych są luki w danych, wynikające choćby z odławiania zwierząt z populacji wolno żyjących i wprowadzaniu ich do stad w niewoli. Odławiane żubry są spokrewnione, ale poziom tego spokrewnienia nie jest możliwy do oceny metodą analizy rodowodu. Z tego względu w Katedrze rozpoczęto kilka lat temu ocenę polimorfizmu genetycznego, głównie bazując na markerach mikrosatelitarnych [3]. Liczba polimorficznych markerów nie przekracza kilkunastu, a obserwowana zmienność jest niewielka. Podjęte zostały kroki w kierunku wykorzystania mikro-macierzy SNP. Utworzono również Bank Genów Żubra, w którym zgromadzono materiał od około 2 tys. osobników.

Populacja żubra jest populacją zamkniętą i nadal nieliczną, z tego względu wzrost w niej poziomu inbrodu jest oczywisty. Na wykresie przedstawiono średnie wartości współczynnika inbrodu w kolejnych dekadach (ostatnia do 2012 roku) dla osobników o pełnym rodowodzie. Liczba tych osobników nie jest bardzo duża, w kolejnych dekadach coraz mniejsza [4], a w ostatnich dziesięciu latach jedynie 30% żubrów urodzonych w niewoli miało pełny rodowód. Średni poziom współczynnika inbrodu w obrębie linii nizinnej przekracza 54% dla zwierząt urodzonych w ostatniej dekadzie, a w linii LC jest prawie dwa razy mniejszy (30%).



Rys. Średnie wartości współczynnika inbrodu (wraz z błędem standardowym) w dwóch liniach żubrów w kolejnych dekadach, począwszy od 1923 roku [4]

Tempo narastania inbrodu na rok w ciągu ostatnich 50 lat (odstęp między pokoleniami około 7 lat) w linii nizinnej jest znacznie wyższe i wynosi 0,46%, natomiast w obrębie linii LC około 0,17%. Obydwie wartości są bardzo wysokie, szczególnie w obrębie linii LB, w której jest to również konsekwencją dominacji pary założycieli w puli genowej – udział tej pary dochodzi obecnie do 90%. Z tego powodu bardzo ważne jest preferowanie w hodowli osobników o niższym udziale tych założycieli.

Wysiłki w celu zmniejszenia tempa utraty zmienności genetycznej idą zarówno w kierunku unikania kojarzeń krewniaczych, ale również utrzymania rzadkich genotypów, do czego bardzo przydatny jest monitoring polimorfizmu DNA dużej liczby osobników. Obecnie jesteśmy na etapie wdrażania obydwu metod oceny równocześnie.

Program hodowli zamkniętej populacji przepiórki japońskiej

Prezentowana populacja to dwie linie przepiórki japońskiej – W i J, utrzymywane w izolacji od 54 pokoleń w Katedrze Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt SGGW. Od początku linie te traktowano jako „rezerwę genetyczną”, którą kilkakrotnie wykorzystywano do utworzenia populacji mieszańcowej, służącej do aktualnie prowadzonych prac eksperymentalnych. Hodowlę rozpoczęło pozyskanie w 1983 roku jaj wylęgowych z linii utrzymywanych w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu. Z wylęzonych ptaków utworzono po 16 monogamicznych par rodziców (gniazd) – założycieli linii. Ponieważ nieznanie było pochodzenie poszczególnych osobników w obrębie linii, przyjęto, że ptaki były niespokrewnione, w konsekwencji dobór do par założycieli linii był losowy. Wobec dużych początkowych kłopotów z rozrodem, szczególnie w linii J, w 6. i 7. pokoleniu tej linii dołączono nowo pozyskane ptaki, zwiększając okresowo (przez 4 pokolenia) liczbę gniazd do 18, a w obu liniach od 6. pokolenia zastąpiono monogamiczne pary rodziców jednostkami hodowlanymi, w których samca kojarzono z dwiema samicami – siostrami.

Od początku założono losowy wybór rodziców (samca i jednej lub dwóch samic) z potomstwa każdego gniazda. Sposób ten dał szansę na reprezentowanie wszystkich rodzin aktualnego pokolenia w pokoleniu następnym, wpływając na zmniejszenie prawdopodobieństwa dryfu genetycznego.

Po uzyskaniu pierwszego pokolenia potomnego należało przyjąć system kojarzeń, który umożliwiłby minimalizację tempa narastania inbrodu. Kojarzenia losowe w izolowanych liniach, przy tak niewielkiej liczbie grup rodzinnych, mogłyby spowodować zbyt szybką utratę zmienności genetycznej i utrudnić planowaną wielopokoleniową hodowlę. Jest to o tyle istotne, że przepiórka japońska wykazuje bardzo silną negatywną reakcję na szybki wzrost inbrodu [10], silniejszą od tej występującej u innych, nieodległych taksonomicznie, gatunków ptaków. Tylko sporadycznie można natrafić na doniesienia o udanych próbach wyprowadzenia linii wysoko zimbredowanych tego gatunku [1].

W tamtym czasie proponowano w literaturze kilka systemów kojarzeń rotacyjnych, stosowanych w doświadczalnych populacjach zwierząt laboratoryjnych [11]. Wśród nich wybrano system hanowerski [9], który stosowano do 10. pokolenia linii. Jak każdy system, nie uwzględniał on przypadków, gdy nie uzyskiwano z różnych przyczyn potomstwa z danego gniazda lub w potomstwie był zaburzony stosunek płci. W konsekwencji efektywna liczba rodzin w kolejnych pokoleniach mogła być mniejsza niż zakładano.

W tej sytuacji podjęto w Katedrze próbę opracowania algorytmu i programu komputerowego wykorzystującego dane rodowodowe do szacowania inbrodu hipotetycznego potomstwa i konstrukcji planu kojarzeń minimalizującego jego przeciętną wartość [6]. Program ten był z powodzeniem stosowany przez 40 pokoleń.

Obecnie pomocą w optymalizacji kojarzeń jest procedura IN-BREED programu komputerowego SAS, umożliwiająca szacowanie spokrewnienia i inbrodu łącznie z inbredem hipotetycznego potomstwa.

W tabeli przedstawiono średnie współczynniki inbrodu dla obu linii w 54. pokoleniu potomnym wraz z ich błędami standardowymi oraz tempo narastania inbrodu wyrażone współczynnikami regresji współczynników inbrodu na pokolenie.

Tabela

Średni poziomy inbrodu w 54. pokoleniu oraz tempo wzrostu tego parametru na pokolenie w obrębie czystych linii przepiórki japońskiej (Michalska, dane niepublikowane)

Linia	Liczba grup potomstwa	Średnia wartość współczynnika inbrodu \pm błąd standardowy (Se)	Tempo wzrostu inbrodu na pokolenie (b)	Współczynnik determinacji (R^2)
W	16	0,3870 \pm 0,0006	0,0075	0,9895
J	16	0,3319 \pm 0,0007	0,0060	0,9759

Podane w tabeli współczynniki inbrodu to wartość maksymalna, w rzeczywistości inbred może być nieco niższy ze względu na fakt, że grupa potomstwa może pochodzić po dwóch matkach – siostrach. Przypadek ten analizowano we wcześniejszej pracy [7], dochodząc do wniosku, że traktowanie grupy potomnej jako pełnego rodzeństwa jest najbezpieczniejsze dla minimalizacji inbrodu poprzez system kojarzeń. Zwraca uwagę wyrównanie inbrodu między grupami rodzinnymi i bezpieczne tempo narastania inbrodu w kolejnych pokoleniach oraz zbliżona do 1 wartość współczynnika determinacji R^2 , świadcząca o dobrym dopasowaniu regresji, czyli o liniowym charakterze zmian inbrodu w czasie kolejnych pokoleń.

Podsumowując można stwierdzić, że przyjęty sposób postępowania, a w szczególności system kojarzeń dobrze wypełnił zadanie minimalizacji inbrodu i zachowania różnorodności, pozwalając na wielopokoleniowe utrzymanie linii o niewielkiej liczebności.

Zachowanie różnorodności znalazło potwierdzenie w wynikach analizy molekularnej wybranych 11 *loci* mikrosatelitarnych w próbach ptaków z obu linii, które są aktualnie przygotowywane do opublikowania [2].

Podsumowanie

Hodowla w populacji zamkniętej wiąże się z narastaniem poziomu spokrewnienia i inbrodu. Praca hodowlana wymaga stosowania metod ograniczających tempo narastania inbrodu. Metody i efekty zależą od rodzaju populacji i celu jej utrzymywania. Przedstawione dwa przykłady są bardzo odmienne od siebie i z tego powodu dobrze obrazują zakres problemów hodowli w małych populacjach. W populacji przepiórki japońskiej istnieje możliwość bardzo precyzyjnego sterowania doбором do kojarzeń, co skutkuje niższym tempem narastania inbrodu na pokolenie (0,6-0,75%), natomiast sterowanie populacją żubra rozmieszczonej w 200 ośrodkach jest bardzo ograniczone, co skutkuje większym tempem wzrostu inbrodu na pokolenie (1,19-3,22%).

Literatura: 1. Kim S.H., Cheng K.M.T., Ritland C., Ritland K., Silversides F.G., 2007 – J. Heredity 98 (4), 378-381. 2. Michalska E., Kozłowski A., Kramarz M., Nowak Z., 2014 – Determination of genetic distance between two lines of Japanese quail (*Coturnix japonica*) and estimation of inbreeding based on pedigree and the analysis of microsatellite markers (przygotowane do druku). 3. Nowak Z., Olech W., 2008 – European Bison Conservation Newsletter 1, 72-78. 4. Olech W., 2003 – Wpływ inbrodu osobniczego i inbrodu matki na przeżywalność cieląt żubra *Bison bonasus*. Monografie SGGW. 5. Olech W., 2009 – European Bison Conservation Newsletter 2, 54-60. 6. Olech W., Michalska E., 1990 – Zwierzęta Laboratoryjne 27, 3-8. 7. Olech W., Michalska E., 1999 – Ann. Warsaw Agricult. Univ. – SGGW, Anim. Sci. 35, 85-91. 8. Pucek Z. (ed), Belousova I.P., Krasieńska M., Krasieński Z.A., Olech W., 2004 – European bison. Status Survey and Conservation Action Plan, IUCN Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 9. Rapp G., 1972 – Z. Versuchstierkd. 14, 133-142. 10. Sittman K, Abplanalp B., Fraser R.A., 1966 – Genetics 54, 371-379. 11. Sławiński T., 1981 – Zasady hodowli zwierząt laboratoryjnych. PWN, Warszawa.

The preservation of genetic variability in populations with controlled mating

Summary

The paper presents two examples of population, where preserving the genetic variability plays very important role. One of those population is European bison – endangered species which passed serious bottleneck. The second is Japanese quail herd bred as closed population for many generation. Based on those examples the practical aspects of breeding strategy were discussed. As a results of breeding strategy the level of inbreeding was presented as well as the rate of its increasing. The European bison population is divided into two genetic lines and the level of inbreeding is equal to 54% within Lowland line and is lower (ca 30%) within Lowland-Caucasian line. Such high level is a consequence of small numbers of founders. The mating system used in two Japanese quail lines allowed to keep the rate of inbreeding below 1% per generation.

KEY WORDS: genetic variability, inbreeding, closed population

Wzbogacenia środowiskowe a dobrostan zwierząt dzikich w ogrodach zoologicznych



Tadeusz Kaleta

Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt SGGW w Warszawie

Pierwszorzędnym celem współczesnego ogrodu zoologicznego jest udział w ochronie zagrożonych gatunków zwierząt. Ścisłej, rolę ta polega na przygotowaniu pewnej liczby osobników danego gatunku do wtórnego zasiedlenia w środowisku naturalnym (reintro-

dukcją). Dlatego zwierzęta te powinny żyć w zoo w środowisku możliwie zbliżonym do warunków naturalnych, a przynajmniej powinny być wolne od niepotrzebnych stresorów. Choćby z tego powodu dobrostan zwierząt w ogrodach zoologicznych ma swoją wagę.

Generalnie, można go zdefiniować podobnie jak w przypadku gatunków udomowionych. Zwierzęta powinny być należycie utrzymane, pielęgnowane i jak najbardziej wolne od bólu, cierpienia, mieć zaspokojone potrzeby i pozostawać w dobrej kondycji fizycznej i psychicznej. W skrócie ujmuje to określenie angielskie „fit and feeling good” [9]. Problem polega jednak na tym, że potrzeby zwierząt dzikich nie są jeszcze wystarczająco poznane, toteż na przykład wytworzenie dla nich sztucznych warunków środowiskowych możliwie bliskich optimum nie jest proste. Osobniki gatunków egzotycznych, sprowadzanych z odległych krain podlegają własnym, często silnie zakodowanym genetycznie rytmom biologicznym. Wykazują one określone preferencje dotyczące warunków abiotycznych (np. światło, temperatura, podłoże) i biotycznych (np. zapachy). Na reakcje zwierząt trzymanych w ogrodach zoologicznych z pewnością mogą też oddziaływać nietypowe dla