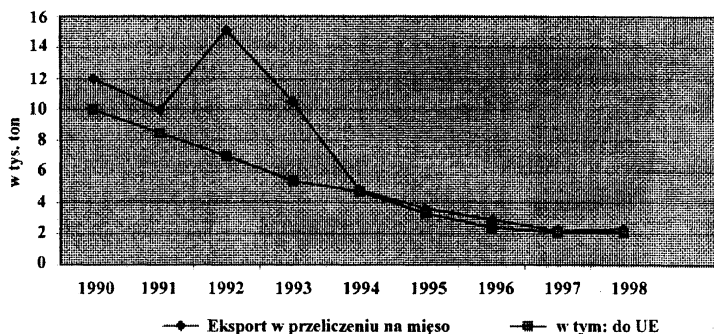


Rys. 5. Struktura produkcji żywca rzeźnego w Polsce w 1998 r. (wg GUS)

zone. Znikome, kilkuprocentowe jest natomiast spożycie innych gatunków, tj. mięsa baraniego, koziego, króliczego, końskiego oraz dziczyzny. Spory udział w spożyciu baraniny mają rodziny rolników utrzymujących owce, ale przeważająca część podaży żywca baraniego kierowana jest na eksport.

Głównym odbiorcą polskich owiec jest Unia Europejska (szczególnie Włochy). W szczytowym okresie, tj. w 1989 roku, eksport żywych owiec do krajów UE wynosił 888 tys. sztuk, co stanowiło ekwiwalent 14 tys. ton mięsa. W 1998 roku wyeksportowano już tylko 198 tys. sztuk, a w przeliczeniu na mięso ok. 2,1 tys. ton. Zatem wolumen eksportu żywca baraniego na rynek Unii w latach 1989-1998 spadł o 78% (tab. 3).

W polskim eksporcie dominują żywe zwierzęta. W 1998 roku około 85% tego eksportu stanowiły jagnięta rzeźne do 1 roku życia. Od 1989 roku przedmiotem eksportu jest również mięso jagnięce i baranie. Produkt eksportowy stanowią przede wszystkim tusze jagnięce świeże schłodzone, z młodych jagniąt ubijanych przy masie ciała od 13 kg do 22-25 kg. W 1998 roku eksport żywca baraniego w przeliczeniu na mięso, łącznie z eksportem mięsa, wyniósł 2,3 tys. ton i w stosunku do roku poprzedniego wzrósł o ok. 5%. W tym samym roku, podobnie jak w latach poprzednich, najwięcej owiec wyeksportowano do Unii Europejskiej, w tym do Włoch. Eksport żywca baraniego do Unii w ekwiwalencie mięsa wyniósł 1,9 tys. ton, w tym jagnięcego 1,5 tys. ton, a w tym do Włoch odpowiednio: 1,6 tys. ton i 1,4 tys. ton. W omawianym roku do Włoch eksportowano także tusze, półtusze i mięso, nato-



Rys. 6. Eksport żywca i mięsa baraniego w latach 1990-1998 (wg GUS)

miast do Francji – mięso mrożone. W ciągu ostatnich lat miał miejsce również niewielki import baraniny.

Handel pomiędzy UE a krajami Europy Środkowo-Wschodniej, w tym Polską, reguluje Układ Europejski. Układ ten między innymi określa wielkość importu owiec z Polski na rynek Unii na zasadach preferencyjnych. W tym celu ustalono roczne kontyngenty wzrastające z roku na rok o 10%, w odniesieniu do których opłaty wyrównawcze od 1992 roku są redukowane w trzech ratach po 20%. A zatem możliwości eksportu żywca i mięsa baraniego dla Polski na rynek Unii rosną, natomiast eksport się zmniejsza. W 1998 roku stanowił ok. 25% kwoty przyznanej Polsce na ten rok. Spadek z roku na rok eksportu żywca i mięsa baraniego pociąga za sobą pogorszenie salda obrotów baraniną w handlu zagranicznym (tab. 4).

Tabela 4  
Wartość obrotów baraniną w handlu zagranicznym w latach 1995-1998, tys. USD

Wyszczególnienie	1995	1996	1997	1998
Eksport	15 410	13 177	10 380	8490
Import	131	15	137	1
Saldo	15 279	13 162	10 242	8489

Źródło: FAMMU/FAPA

W 1998 roku, mimo wzrostu eksportu w stosunku do roku poprzedniego, wpływy z eksportu były niższe o ponad 30%. Przyczyną zaistniałej sytuacji jest spadek cen w eksporcie, zarówno żywca jak i mięsa baraniego.

## Markery genetyczne i ich wykorzystanie w hodowli kóz

Katarzyna Wojdak-Maksymiec

AR w Szczecinie

W pracy hodowlanej bardzo cenną pomocą może okazać się wykorzystanie tzw. markerów genetycznych. Terminem tym

określana jest zwykle prosta cecha jakościowa, zauważalna w fenotypie osobnika lub dająca się łatwo zidentyfikować za pomocą metod biochemicznych (np. elektroforezy), wyznaczana zazwyczaj przez geny sprzężone z grupą genów wyznaczających selekcionowaną cechę ilościową.

### RODZAJE MARKERÓW GENETYCZNYCH

Marker dziedziczny się zgodnie z prawami Mendla (Nowicki i wsp., 1994). Obecnie według Kurył (1992) źródłem markerów genetycznych mogą być:

- antygeny erytrocytarne, określane popularnie jako grupy krwi;
- antygeny leukocytarne i powierzchniowe innych komórek zawierających jądro, czyli antygeny zgodności tkankowej (MHC);
- allotypy immunoglobulin i allotypy lipoprotein;

- polimorficzne białka osocza krwi i erytrocytów;
- polimorficzne białka mleka ssaków i jaja ptaków;
- polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych DNA (RFLP);
- minisatelitarny polimorfizm DNA (DNA fingerprint);
- zmienna liczba tandemowych powtórzeń (VNTR);
- mikrosatelitarny polimorfizm DNA (metoda PCR).

**Antygeny erythrocytarne.** Antygeny powierzchniowe erythrocytów identyfikuje się metodami serologicznymi. Badania te u zwierząt domowych zapoczątkował Irwin w 1942 roku. Zaprezentował on 30 czynników antygenowych erythrocytów u bydła oraz model ich dziedziczenia. Kolejne lata przyniosły lawinowy rozwój tych badań i identyfikację grup krwi u zwierząt hodowlanych (Nguyen, 1990).

Antygeny są przekazywane potomstwu w formie całych kompleksów, zwanych fenogrupami. Mechanizmy dziedziczenia są do chwili obecnej przedmiotem dyskusji (Kurył, 1992). Istnieją dwie teorie genetycznej determinacji grup krwi: pierwsza mówi, że fenogrupy są uwarunkowane przez allele wielokrotne, wówczas jeden gen odpowiada jednej fenogrupie oraz druga, że istnieje ścisłe sprzężenie, tzw. gene cluster i geny takie dziedziczą się łącznie. Niektóre badania wykazują jednak przypadki nieregularnego przekazywania fenogrup.

Pierwsze badania nad układami grupowymi krwi prowadzili Wang (1950) i Suzuki (1962). Zidentyfikowali oni dwa aglutynogeny G<sub>1</sub> i G<sub>2</sub> oraz dwa lisogeny Y<sub>1</sub> i Y<sub>2</sub>, kontrolujące występowanie czterech fenotypów. Układy grupowe krwi kóz są najbardziej zbliżone do układów grupowych owiec (Suzuki i Watanabe, 1968). U obu tych gatunków znaleziono pięć systemów homologicznych – A, B, C, M i R (Nguyen, 1990). U kóz, tak jak i u innych zwierząt gospodarskich, najbardziej złożony jest system grupowy B. Dotychczas zidentyfikowano w nim 31 różnych fenogrup. W pozostałych systemach wykryto po dwa allele wyznaczające obecność dwóch fenotypów (Schmid, Suzuki, 1971; Nguyen, 1990).

Ponadto znaleziono także specyficzne systemy występujące tylko u kóz – E i F. W układzie E występują cztery fenotypy kontrolowane przez dwa allele kodominujące i jeden recesywny w pojedynczym locus (Barbanch i wsp., 1984). Natomiast w systemie F zidentyfikowano parę alleli wyznaczających dwa fenotypy (Nguyen, 1990).

**Antygeny zgodności tkankowej (MHC).** Antygeny układu MHC podzielono na trzy klasy. Do klasy I należą transmembranowe glikoproteiny o ciężarze cząsteczkowym 40 000–45 000 Daltonów, niekowalentnie związane z β-2-mikroglobuliną. Znajdują się one na powierzchni większości komórek, chociaż ich ilość różni się w zależności od typu komórek. Antygeny II klasy są identyfikowane głównie na powierzchni limfocytów B. Ich polimorfizm jest znacznie mniejszy niż antygenów I klasy. Są to również transmembranowe glikoproteiny. Antygeny zaliczane do klasy III to niektóre komponenty systemu kompleksu (Nesse, Larsen, 1987).

U zwierząt domowych najlepiej poznany jest system BoLA (bovine leucocyte antigens) – główny kompleks zgodności tkankowej u bydła. Zlokalizowano go na 23 chromosomie. Zidentyfikowano około 30 antygenów klasy I. Polimorfizm w obrębie klasy II badano głównie na poziomie DNA, identyfikując zróżnicowanie w liczbie fragmentów restrykcyjnych DNA kodujących poszczególne antygeny.

U kóz w głównym kompleksie zgodności tkankowej (CLA – caprine leucocyte antigens) zidentyfikowano 24 allele jednej serii klasy I, przy wykorzystaniu metody elektroforezy w gra-

dencie pH, a następnie immunoblottingu z przeciwciałami monoklonalnymi (Joosten i wsp., 1993). Jeden ze zidentyfikowanych antygenów jest prawdopodobnie warunkowany przez gen II klasy (Nesse i Larsen, 1987).

**Allotypy immunoglobulin i lipoprotein.** Immunoglobuliny i ich allotypy są warunkowane genetycznie. Najdokładniej poznany jest polimorfizm allotypowy immunoglobulin u ludzi, u których zidentyfikowano ponad 20 cech związanych z łańcuchami ciężkimi IgG i IgA oraz łańcuchami lekkimi kappa. Obecnie znanych jest kilkanaście genetycznie uwarunkowanych antygenów łańcuchów ciężkich co najmniej trzech klas IgG (Węgrzyn, 1987).

Specyficzne cechy antygenowe mają także lipoproteidy surowicy krwi. Polimorficzne formy antygenów występujących na drobinach białek nazywane są allotypami, podobnie jak w odniesieniu do immunoglobulin. Badania allotypów u zwierząt są badaniami bardzo trudnymi, zarówno od strony metodycznej jak i interpretacyjnej, dlatego stosunkowo mało laboratoriów zajmuje się tymi zagadnieniami.

**Polimorficzne białka osocza krwi i erythrocytów.** O polimorfizmie danego białka, występującego w krwi lub tkance, mówimy wtedy, gdy istnieją co najmniej dwie jego formy strukturalne. Jeżeli zjawisko to odnosi się do enzymu, wówczas mówimy o izoenzymach. Izoenzymy mają podobne, lecz niekoniecznie identyczne, własności, tzn. katalizują ściśle określoną reakcję biochemiczną, lecz różna jest ich kinetyka. Izoenzymy mogą występować razem w jednej komórce, mogą również istnieć znaczne różnice we wzorze izoenzymów między różnymi narządami czy tkankami lub też różnymi stadiami rozwoju osobniczego. Charakteryzując więc polimorfizm białek, w tym enzymów, należy uwzględnić nie tylko rodzaj badanej tkanki, lecz i stan fizjologiczny osobnika, jeśli czynniki te wpływają na obraz białek.

Badania polimorfizmu białek są prowadzone z zastosowaniem różnorodnych technik elektroforetycznych. Ich gwałtowny rozwój rozpoczął się w 1955 roku, kiedy to Smithies opisał metodę rozdzielania białek surowicy krwi w żelu skrobiowym. Metoda ta pozwoliła na obserwację nieporównanie większej ilości frakcji w stosunku do odnotowanych wcześniej przy zastosowaniu elektroforezy bibułowej. W ciągu kolejnych lat

**Tabela**  
**Polimorficzne białka krwi kóz**

Białko	Symbol	Liczba zidentyfikowanych alleli	Autor
<b>Osocze</b>			
albumina	Al	2	Laresn i wsp., 1992
amylaza	AM	2	
transferyna	Tf	4(5)	
białko wiążące wit. D	G(C)	3	
hemopeksyna	HPX	2	
<b>Osocze</b>			
inhibitor α-proteaz A	PIA	4	Vankan, Bell, 1993
inhibitor α-proteaz B	PIB	3	
inhibitor α-proteaz C	PIC	3	
inhibitor α-proteaz D	PID	5	
inhibitor α-proteaz E	PIE	2	
<b>Erythrocyty</b>			
białko X	X	3	Laresn i wsp., 1992
hemoglobina α	Hb α	2	
hemoglobina β	Hb β	7	
dehydrogenaza jabłczanowa	ME	3	
NADH diaforaza	DIA	2	
poziom potasu	KE	2	
katalaza	KAT	2	

wprowadzono nowe nośniki, np. poliakrylamid, oraz wiele nowych metod, jak elektroforeza dwuwymiarowa, czyli elektroforeza – rozdzielanie białek w gradiencie pH.

Do roku 1992 u kóz zidentyfikowano heterogenność jedynie trzech białek surowicy krwi (albuminy, transferyny i hemopeksyny) i dwóch białek erytrocytarnych (hemoglobiny i białka X). W roku 1993 Vankan i Bell opisali 15 elektroforetycznych genetycznych wariantów inhibitorów  $\alpha$ -proteaz. Podlegają one genetycznej kontroli 5 loci obejmujących łącznie 17 alleli. W loci B, C i D zidentyfikowano ponadto allele zerowe. U kóz system ten jest najbardziej polimorficzny, podobnie jak u świń i koni. W tabeli podano niektóre opisane dotychczas układy polimorficznych białek krwi u kóz.

**Polimorficzne białka mleka.** Pierwsza praca dotycząca polimorfizmu białek mleka ukazała się w 1955 roku, kiedy to Aschaffenburg i Drewry opisali heterogenność  $\beta$ -laktoglobuliny mleka krów. U kóz zidentyfikowano polimorfizm białek serwatkowych:  $\beta$ -laktoglobuliny i  $\alpha$ -laktoglobuliny oraz czterech białek kazeinowych zaliczanych do tzw. białek serowych, a mianowicie  $\alpha_{S1}$ -kazeiny,  $\alpha_{S2}$ -kazeiny,  $\beta$ -kazeiny i  $\kappa$ -kazeiny.

Kazeinowa frakcja mleka przeżuwaczy kodowana jest przez geny czterech loci:  $\alpha_{S1}$ -Cas,  $\alpha_{S2}$ -Cas,  $\beta$ -Cas, i  $\kappa$ -Cas, zlokalizowanych we fragmencie DNA o wielkości 220/250-kb, zmapowanym na chromosomie 6. u bydła oraz na chromosomie 4. u owiec i kóz (Martin, 1993).

Ze wszystkich polimorficznych układów białek mleka u kóz najlepiej poznany jest niezwykle i złożony układ w locus  $\alpha_{S1}$ -Cas, odpowiedzialny za duże indywidualne różnice w zawartości kazeiny mleka. Alleliczna zmienność ilościowa w połączeniu z polimorfizmem jakościowym tworzy z tego układu bardzo oryginalny model. Jego podstawy molekularne są już w dużym stopniu wyjaśnione. W locus  $\alpha_{S1}$ -Cas wykazano istnienie co najmniej 7 alleli: A, B, C, D, E i F oraz tzw. allelu zerowego – niekodującego. Allele te mają ponadto kilka podtypów, np. allel F występuje w dziewięciu formach, zaś allel B w co najmniej trzech (Mahe i Grosclaude, 1989; Leroux i wsp., 1992). Ponadto Chianese i wsp. (1997) donoszą o wykryciu czterech kolejnych alleli: G, H, I oraz L.

Poszczególne allele są ponadto powiązane z 4 różnymi poziomami ekspresji. Allele A, B i C warunkują dużą zawartość kazeiny  $\alpha_{S1}$  w mleku i nazywane są allelami mocnymi. Allele E i G to tzw. allele średnie, które powiązane są z pośrednią zawartością kazeiny  $\alpha_{S1}$ , natomiast allele D i F zaliczane są do tzw. alleli słabych, warunkujących niski poziom tego białka. Ponadto zidentyfikowano allel 0. W jego obecności  $\alpha_{S1}$ -kazeina jest syntetyzowana tylko w bardzo niewielkich ilościach lub nie obserwuje się jej w ogóle (Boulanger i wsp., 1984; Martin, 1993; Kmieć i wsp., 1999).

Polimorfizm kazeiny  $\alpha_{S2}$  jest kontrolowany przez dwa kodominujące allele – A i B, z tym że częstość allelu A kształtuje się w zakresie 0,85-0,75 (Boulanger i wsp., 1984, Grosclaude i Mahe, 1996). Kazeina  $\beta$  występuje w postaci dwóch wariantów genetycznych warunkowanych przez allele A i B. Zidentyfikowano również allel zerowy (Grosclaude, Mahe, 1996). Heterogenność kazeiny  $\kappa$  również warunkują dwa kodominujące allele A i B (Martin, 1993; Grosclaude, Mahe, 1996).

**Polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP).** Polimorfizm ten związany jest z występowaniem różnic w sekwencji nukleotydów w obrębie genu. Różnice te mogą być ujawniane przez enzymy restrykcyjne, które rozpoznają typowe dla nich sekwencje nukleotydowe, tnące DNA na fragmenty o bardzo zróżnicowanej długości. Zróżnicowanie

to jest badane poprzez elektroforezę DNA, a następnie hybrydację z wyznakowaną sondą molekularną DNA analizowanego genu.

Polimorfizm ten jest wynikiem punktowych mutacji, występujących w obrębie genu. Mutacja taka polega na zmianie sekwencji nukleotydów. Konsekwencją takiej zmiany może być powstanie miejsca rozpoznawanego przez enzym restrykcyjny (znanych jest ponad 200 enzymów) lub utrata takiej rozpoznawalności. Tnąc DNA badanego osobnika wybranym enzymem restrykcyjnym uzyskujemy fragmenty o różnej długości. Stosując technikę elektroforezy, można doprowadzić do rozdzielenia tych fragmentów na frakcje o podobnej długości. Hybrydując tak rozdzielony DNA z wyznakowaną sondą danego genu, można ustalić, jaka forma polimorficzna (RFLP) genu występuje w genotypie badanego osobnika. Formy te dziedziczą się w prosty mendelowski sposób (Świński, 1992).

**Minisatelitarny polimorfizm DNA (DNA fingerprint).** Niezwykle istotnym odkryciem dotyczącym polimorfizmu DNA było stwierdzenie, że w genomie ludzkim występują miejsca o bardzo charakterystycznej sekwencji nukleotydów. Miejsca takie zawierają zmienną liczbę tandemowych powtórzeń kilkunasto- lub kilkudziesięcionukleotydowego motywu. Zależnie od liczby powtórzeń fragment taki ma charakterystyczną długość, którą można określać i rozpoznawać za pomocą wspomnianej już powyżej metody elektroforezy DNA, połączonej z hybrydacją z wyznakowaną sondą, reprezentującą powtarzający się motyw nukleotydowy.

Podobnie jak w przypadku wykrywania polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) także i tutaj podstawową rolę odgrywają enzymy restrykcyjne, za pomocą których następuje wycięcie fragmentu DNA, zawierającego powtarzające się tandemowo sekwencje nukleotydowe. Liczba powtórzeń decyduje o długości fragmentu, a to z kolei decyduje o szybkości jego przemieszczania się podczas elektroforezy. Opisane powyżej zjawisko zostało określone jako minisatelitarny polimorfizm DNA (Jeffreys, Wilson, 1985).

Należy podkreślić, że powtarzająca się sekwencja może występować w wielu miejscach genomu i że znanych jest wiele takich sekwencji. Tym samym można stwierdzić, że genom ludzki oraz genomy różnych gatunków zwierząt są w znacznym stopniu nasycone loci, zawierającymi sekwencje składające się z tandemowych powtórzeń konkretnego motywu nukleotydowego. Określane jest to jako minisatelitarny polimorfizm DNA, występujący w wielu loci (multilocus minisatellite DNA polymorphism lub multilocus DNA fingerprints).

Wykonanie analizy DNA pojedynczego osobnika sprowadza się do uzyskania osobniczo specyficznego układu prążków, pojawiającego się po elektroforezie i hybrydacji z wyznakowaną sondą, reprezentującą konkretną sekwencję powtarzalną. Układ takich prążków nazywany jest „odciskiem palca DNA” (DNA fingerprint). Powyższa metoda znalazła szerokie zastosowanie w kontroli pochodzenia zwierząt hodowlanych oraz w medycynie sądowej (Świński, 1992).

**Zmienna liczba tandemowych powtórzeń (VNTR).** Poprzez modyfikację powyższej metody (Georges, 1991) możliwa jest identyfikacja pojedynczego locus, zawierającego zmienną liczbę tandemowych powtórzeń sekwencji nukleotydowych (VNTR – variable number of tandem repeats). Możliwość identyfikacji pojedynczych loci typu VNTR stanowi kolejne i bardzo bogate źródło polimorficznych markerów genetycznych, wykrywanych przez bezpośrednią analizę DNA.

Markery tego typu są coraz częściej wykorzystywane w konstruowaniu map genomowych. Bardzo dobrym przykładem takiego podejścia jest zmapowanie przez Gunawardanę (1991) sześciu różnych sond molekularnych, reprezentujących różne sekwencje powtarzające się tandemowo na chromosomach bydła owiec i kóz. Można przypuszczać, że ten rodzaj markerów genetycznych odegra kluczową rolę w budowaniu map genomowych u zwierząt.

**Mikrosatelitarny polimorfizm DNA.** Kolejnym etapem w poznawaniu genomu stało się wykrycie tzw. mikrosatelitarnego polimorfizmu DNA (Litt, Luty, 1989). Zjawisko to polega na występowaniu w genomie krótkich sekwencji, składających się ze zmiennej liczby tandemowych powtórzeń dwu- lub trzynukleotydowego motywu. Liczba tych powtórzeń zawiera się zazwyczaj w zakresie od kilku do kilkudziesięciu. Oznacza to, że różnice długości takich tandemowych sekwencji są bardzo małe – rzędu najwyższej kilkudziesięciu nukleotydów. Wykrycie takich różnic za pomocą klasycznej metody elektroforezy DNA i hybrydyzacji z sondą staje się niemożliwe.

Rozwiązanie tego problemu związane jest z kolejną techniką molekularną, która nazywa się łańcuchową reakcją polimerazową (PCR – polymerase chain reaction). Technika ta umożliwia przeprowadzenie szybkiej amplifikacji (zwielokrotnienie liczby kopii) konkretnego fragmentu DNA, nawet bardzo krótkiego. Jednak żeby osiągnąć ten cel, konieczne jest dysponowanie tzw. sekwencjami starterowymi, które są komplementarne do sekwencji DNA znajdujących się po obu stronach fragmentu, który ma podlegać reakcji PCR. Dzięki tej metodzie można na bazie całkowitego DNA, pochodzącego z dowolnych komórek jądrowych badanego osobnika, uzyskać wiele (miliony) kopii wybranego fragmentu z całego genomu. Przeprowadzenie elektroforezy na tak przygotowanym materiale pozwala na ujawnienie różnicowania długości sekwencji mikrosatelitarnych. Polimorfizm tego typu został opisany między innymi u bydła (Fries, 1990).

#### WYKORZYSTANIE MARKERÓW GENETYCZNYCH

Markery genetyczne stanowią cenny materiał zarówno do badań z zakresu genetyki populacji, jak i dla praktyki. Na podstawie częstości występowania warunkujących je genów i genotypów można określić strukturę genetyczną badanej populacji. Analiza ich rozkładu pozwala ustalić, czy dana populacja znajduje się w stanie równowagi genetycznej, czy też równowaga ta została zachwiana.

Markery są źródłem informacji do oszacowania stopnia homo- i heterozygotyczności. Zanim nastąpił rozwój badań nad grupami krwi i polimorfizmem białek, kalkulację stopnia heterozygotyczności opierano na cechach takich, jak umaszczenie zwierząt, lub niektórych cechach ilościowych, warunkowanych zwykle przez kilka genów, co zmniejszało jej dokładność.

Badania efektu heterozji prowadzi się, kojarząc linie o określonym stopniu homozygotyczności. Charakterystyka wybranych markerów genetycznych pozwala śledzić, jakie geny ulegają eliminacji równoległe do eliminacji cech niekorzystnych z punktu widzenia hodowlanego.

Na podstawie frekwencji genotypów warunkujących markery genetyczne ustalić można rozkład tzw. hemotypów w badanej populacji, a na jego podstawie wnioskować o stopniu konsolidacji genetycznej badanej grupy zwierząt (Kamiński, 1982, 1984). Rozkład markerów pozwala określić dystans genetyczny między różnymi rasami danego gatunku, a także między różnymi liniami tej samej rasy (Tucker i wsp., 1989). Na podstawie badań polimorfizmu białek krwi i grup

krwi oceniony został dystans genetyczny między kozami a owcami, między kozami udomowionymi a kozami dzikimi oraz między różnymi rasami kóz hodowanych w Hiszpanii (Tunon i wsp., 1989).

Niezmiernie istotnym zagadnieniem w hodowli zwierząt jest kontrola pochodzenia, bez której niemożliwa byłaby efektywna praca hodowlana. Do celów tych wykorzystywano dotychczas przede wszystkim grupy krwi i polimorficzne układy białkowe. Jednakże dopiero rozwój badań nad polimorfizmem DNA stworzył niezwykle możliwości w kontroli pochodzenia. Dotyczy to szczególnie polimorfizmu sekwencji powtarzających się w intronach, czyli tzw. fingerprint – „odcisk palca” (Kurył, 1992).

Badania markerów genetycznych pozwoliły na opracowanie map genetycznych. Dynamiczny rozwój programów mapowania genomów zwierząt domowych datuje się od początku lat dziewięćdziesiątych, kiedy to utworzono pierwsze międzynarodowe programy, których celem było utworzenie markerowych map genomu świni – PiG MaP (Pierzchała, 1996), bydła – BovMap (Eggen, Fries, 1995) i psa – DogMap (Światoński, Zajac, 1996). Intensywne prace badawcze dotyczą, oprócz wymienionych powyżej gatunków, również genomu kury, owcy, konia, a także kozy (Vaiman i wsp., 1996).

Wspólnym celem tych przedsięwzięć jest stworzenie map, zawierających równomiernie rozproszone markery genetyczne, przy zachowaniu odległości między nimi nie większej niż 20 cM. Przy takim nasyceniu mapy dowolny gen występujący w genomie będzie oddalony od zmapowanego, sprzężonego z nim markera nie więcej niż o 10 cM (Echard i wsp., 1994). Szeroko zakrojone badania, zmierzające do konstrukcji map genomowych zwierząt przyniosły widoczny postęp. Szczególną rolę w tym procesie odgrywają markery związane z polimorfizmem niekodujących sekwencji DNA (O'Brien i wsp., 1993). Równoległe rozwijane są dwie mapy dla każdego genomu (Światoński, 1998):

1) mapa fizyczna, inaczej cytogenetyczna, która wskazuje położenie markera na określonym chromosomie lub, jeszcze dokładniej, w określonym miejscu chromosomu;

2) mapa genetyczna, która zawiera informacje o odległościach genetycznych mierzonych w centymorganach (cM) oraz o kolejności loci w układach sprzężonych.

Mapy takie mogą być wykorzystane do identyfikacji loci genów kontrolujących cechy ważne z hodowlanego punktu widzenia. Wśród nich na szczególną uwagę zasługują geny odpowiedzialne za kształtowanie cech ilościowych, tzw. QTL – quantitative trait loci (Andersson i wsp., 1994; Szydlowski, 1994), takich jak: tempo wzrostu, masa ciała, mięsność tuszy, wydajność mleka, plenność itp. Ponieważ cechy te są warunkowane poligenicznie, to praktycznie nie ma możliwości ustalenia genotypu zwierząt w obrębie wszystkich loci, które wpływają na ich kształtowanie. Dlatego ocena genotypu zwierząt na potrzeby selekcji jest jedynie szacowana, jako tzw. wartość hodowlana, przy pomocy metod statystycznych.

W ostatnim czasie odnotowano jednak istotny postęp w identyfikowaniu genów z dużymi efektami działania – tzw. genów głównych, których udział w ogólnej zmienności genetycznej danej cechy jest na tyle duży, że może być uchwytany. Poznawanie genów wpływających znacząco na kształtowanie się cech ilościowych jest zadaniem bardzo trudnym i można je realizować zasadniczo na dwa sposoby.

Po pierwsze, przez lokalizowanie markerów genetycznych sprzężonych z genem opisanym na podstawie obserwacji

i badań populacyjno-hodowlanych lub tylko domniemywanym genem o dużym efekcie działania, a następnie przez wybór genu-kandydata spośród loci znajdujących się w pobliżu zmapowanych markerów.

Trudniejsza sytuacja jest wówczas, gdy z dotychczasowych obserwacji nad zmiennością cechy nie można wyciągnąć wniosku o obecności genu o dużym efekcie działania. Wówczas, gdy dysponuje się markerową mapą genomu oraz tzw. rodzinami referencyjnymi, podejmowane są badania, których celem jest stwierdzenie, czy segregacji alleli markerowych o znanym położeniu na mapie genomu towarzyszy segregacja alleli jakiegoś nieznanego genu, wpływającego w stopniu uchwytym na zmienność cechy ilościowej.

Rodziny referencyjne (informacyjne) pochodzą z krzyżowania osobników należących do ekstremalnie różnych ras, które dzieli jak największy dystans genetyczny [Echard i wsp., 1994; Crawford i wsp., 1995; Montgomery i wsp., 1995]. Uzyskane w ten sposób potomstwo charakteryzuje się znacznym stopniem heterozygotyczności, dzięki czemu analiza segregacji alleli w następnym pokoleniu pozwala na identyfikację ewentualnych sprzężeń oraz ustalenie genetycznych odległości pomiędzy nimi. W badaniach tego typu konieczne jest ustalenie genotypu w możliwie dużej liczbie równomiernie rozproszonych loci markerowych członków rodziny referencyjnej oraz obserwowanie zmienności analizowanych cech ilościowych. Tak zgromadzone informacje poddawane są opracowaniu statystycznemu – tzw. analizie segregacyjnej, której efektem może być wskazanie, w jakim regionie chromosomu można przewidywać obecność locus genu głównego.

Mapowanie genów umożliwia nie tylko identyfikację genów o dużym efekcie działania. Wiele markerów genetycznych jest skorelowanych z występowaniem dewiacji metabolicznych, defektów immunologicznych i wielu innych uwarunkowanych genetycznie stanów patologicznych organizmu oraz

z wrażliwością na różnego rodzaju choroby. Znanych jest wiele chorób genetycznych uwarunkowanych monogenowo, ale tylko w nielicznych przypadkach znane są mutacje, które są czynnikiem sprawczym, lub markery, które są sprzężone z poszukiwanym genem.

W hodowli kóz istotnym problemem jest interseksualizm, występujący u osobników bezrożnych. Bezrożność jest cechą wyznaczaną przez zmutowany autosomalny gen dominujący P wobec allelicznego genu recesywnego p, wyznaczającego rogatość. Gen P jest dominujący u samców, natomiast u samic zachowuje się jak gen ustępujący. Jest to więc cecha jakościowa związana z płcią. Występując w formie homozygotycznej (PP) u samicy prowadzi do jej maskulinizacji; następuje rozwój jąder lub pospołu – jąder i jajników. Takie samice przypominają interseksa; są pseudohermafrodydami o cechach samczych i są bezpłodne. Także homozygotyczne (PP) samce są w większości bezpłodne (Nowicki i wsp., 1999). Locus genu bezrożności został umiejscowiony w części dystalnej chromosomu 1. w pobliżu czterech loci: BM3205, CSSM19, MAF46 i BM148. Markerem położonym najbliżej jest CSSM19 – dzieli go odległość 5 cM od tego locus. Przyпуска się, że gen bezrożności może mieć działanie plejotropowe bądź jest ściśle sprzężony z autosomalnym genem, zaangażowanym w determinację płci (Vaiman i wsp., 1996).

Tymczasem locus bezrożności byłą, który nie ma żadnego związku z rozwojem interseksualnym, został zlokalizowany również na chromosomie 1., ale w części proksymalnej jest sprzężony między innymi z locus INRA212 (Harlizius i wsp., 1997). Jest to o tyle ciekawe i zaskakujące, że chromosomy byłą i kozy wykazują bardzo daleko idące podobieństwo. Można jednak wyciągnąć z tego wniosek, że bezrożność u kóz i byłą zależna jest od mutacji w różnych loci. W obydwu przypadkach nie wskazano jeszcze genów-kandydatów.

**45 pozycji literatury do wglądu w Redakcji i u Autorki**

## Odzwierzęce zakażenia verotoksycznymi szczepami *E. coli* – zagrożenie epidemiczne

**Antoni J. Furowicz,  
Danuta Czernomysy-Furowicz,  
Anna Perużyńska**

**AR w Szczecinie**

Verocytotoksyczne (verotoksyczne) szczepy *E. coli* (VTEC), uważane są za zoonotyczne mikropatogeny człowieka, wywołujące u zakażonych osób trzy bardzo groźne syndromy chorobowe. Są to: krwotoczne zapalenie jelita grubego (Haemor-

rhagic colitis – HC), hemolityczny zespół mocznicowy (Haemolytic uraemic syndrome – HUS) oraz zakrzepowa plamica małopłytkowa (choroba Moschowitz'a – TTP). Ta trzecia jednostka komplikuje najczęściej przebieg HUS [5, 6, 25]. Szczepem bakteryjnym, któremu przypisuje się największą toksyczność (wytworzenie verotoksyn: 1 (VT1) oraz/lub 2 (VT2) jest serotyp *E. coli* O157:H7 [23]. Obecnie uważa się, że cechą tę prezentuje również ponad 100 innych serotypów, zwłaszcza z serogrup: O103, O113, O26, O5, O45, O91, O101, O111, O128, O145 [18]. Rezerwuarem szczepów VTEC są zwierzęta hodowlane (z reguły zdrowe), przede wszystkim bydło, a ponadto owce, kozy, trzoda chlewna i drób, rzadziej psy i koty oraz zwierzęta dzikie – ssaki i ptaki (m.in. mewy) [3, 11, 12, 16]. Źródłem infekcji człowieka są produkty zwierzęce – nie poddane dostatecznym procesom termicznym mięso wołowe (hamburgery), baranina, wieprzowina, mięso drobiu oraz niepasteryzowane mleko [12, 23]. Rzadziej – surowe owoce i warzywa (zwłaszcza kiełki) kontaminowane kałem zwierząt oraz soki owocowe i woda pitna. Inne możliwości infekcji, to zakażenia człowieka od człowieka („person to person”), w których najczęściej źródłem zarazka są zdrowi nosiciele, jak również infekcje szpitalne [20, 24, 25].

Szczepy VTEC charakteryzują się olbrzymią toksycznością w stosunku do organizmu człowieka. Do wywołania cho-