

leżne od rozwoju rynku UE. Założeniem udanego wejścia na ten rynek jest więc wstępne wyrównanie warunków współzawodnictwa w krajach dążących do członkostwa.

Doktor Leyding uważa, że właśnie w hodowli i inseminacji konsekwentne realizowanie założeń i sposobów produkcji daje polskiemu rolnictwu dużą szansę w UE. Ważnym jest jednak stworzenie całego szeregu podstaw, które do tej pory nie do końca zostały przygotowane. Dotyczy to w szczególności regulacji państwowych, które aktualnie w wielu dziedzinach raczej ograniczają przedsiębiorstwa niż je wspierają. Następnie omówił przepisy sanitarno-weterynaryjne, obowiązujące w krajach UE, w zakresie produkcji i obrotu nasieniem buhajów. Stwierdził, że podstawowe znaczenie ma uznawanie zakładów produkcji nasienia za spełniające określone wymagania oraz nadanie tym zakładom odpowiednich licencji. W zakładach uznanych obowiązuje stosowanie systematycznej kontroli zdrowia buhajów, mające na celu wychwytywanie i eliminowanie przypadków wskazujących na zetknięcie się buhajów z czynnikiem chorobotwórczym. Wymagany jest stały nadzór nad zdrowiem buhajów i higieną produkcji nasienia, sprawowany przez zatrudnionego w danym zakładzie, wyspecjalizowanego w andrologii, lekarza weterynarii.

W kolejnym referacie prof. Stefan Wierzbowski z IZ w Bałicach przedstawił zasady postępowania, które warunkują posiadanie buhajów wolnych od nosicielstwa drobnoustrojów wywołujących choroby zakaźne i produkcji nasienia nie zagrażającego inseminowanym samicom. System Specific Pathogen Free (SPF), co oznacza wolny od swoistych drobnoustrojów chorobotwórczych, obowiązuje już powszechnie. Wytyczne Rady UE w tym zakresie dotyczą krajów UE, a Certified Semen Services (CSS) określają warunki, jakie muszą być spełnione w zakładach produkujących nasienie w USA. Choroby wirusowe stanowią ciągłe zagrożenie, obecnie największym niebezpieczeństwem jest otręt (IBR/IPV/IPB) oraz wirusowa biegunka bydła i choroba błon śluzowych (BVD-MD). Nieoczekiwanie stwierdzono w ostatnich latach w Szwajcarii i w Polsce kilka przypadków choroby mętkowej u buhajów

pozostających po stałą kontrolą. Budzi to zrozumiałą niepokój i konieczność szukania źródeł infekcji. Widać więc, że zagrożenie chorobami zakaźnymi stale się utrzymuje, mimo najdalej posuniętych działań zapobiegawczych.

Na zakończenie należy się zastanowić, jaki pożytek mogło wynieść z udziału w konferencji blisko stu uczestników, zgromadzonych w Dużej Auli PAU przy ul. Sławkowskiej w Krakowie. Otóż, po pierwsze mogli być podbudowani słowami dużego uznania, jakiego nie szczędził służbie inseminacyjnej prof. Henryk Jasiński, który stwierdził, że współczesne programy hodowlane i uzyskiwany postęp wydajności bydła jest możliwy tylko dzięki stosowaniu inseminacji i w rosnącym zakresie też dzięki transplantacji zarodków. Takie stwierdzenie ma szczególną wartość, bowiem pochodzi od wybitnego specjalisty w zakresie hodowli bydła i wieloletniego dyrektora działu produkcji zwierzęcej FAO. Równie duże uznanie dla wszystkich pracowników wyraził prof. Jan Szarek, prezes Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, który stwierdził, że Jubileusz 50-lecia inseminacji w Polsce był nadzwyczaj skromną uroczystością, nieporównywalną do ogromnego wkładu służby inseminacyjnej w postęp hodowlany bydła mlecznego i mięsnego. Podkreślił również, że problematyka, której ta konferencja była poświęcona, jest niezmiernie aktualna i ważna dla polskiego rolnictwa.

Zebrani otrzymali także wnikliwą analizę stanu inseminacji bydła w Polsce, z której wynika, że tylko rychła prywatyzacja może prowadzić do postępu i możliwości konkurowania tej branży z innymi krajami. W dyskusji zarysowała się wyraźna różnica poglądów na temat roli inseminatorów oraz celowości i zakresu wprowadzenia na rynek krajowy nasienia z zagranicy. O celowości i skali stosowania nasienia importowanego powinny decydować organizacje hodowlane i związki hodowców. Uczestnicy spotkania mieli także możliwość wysłuchania informacji o organizacji unasienniania w Wielkiej Brytanii i w Czechach oraz na temat wymogów sanitarno-weterynaryjnych, obowiązujących w inseminacji bydła.

I Sympozjum Genetyki Drobiu

Kazimierz Jaszczak, Barbara Wardęcka

IGiHZ PAN w Jastrzębcu

Na XII Sympozjum Bieżących Problemów w Genetyce Ptaków (AVIAGEN) i Okrągłego Stołu Europejskich Hodowców Drobiu (EBRT – European Poultry Breeders Roundtable), które odbyło się w 1997 roku w Prochunicach koło Pragi, zdecydowano o połączeniu tych dwóch spotkań z posiedzeniem tzw. Grupy Roboczej 3 (zajmującej się genetyką i hodowlą drobiu) Światowego Stowarzyszenia Wiedzy Drobiarskiej (WSPA) w jedno wspólne sympozjum organizowane co dwa lata. Postanowiono, że głównym celem tych spotkań będzie prezentacja najnowszych osiągnięć z zakresu genetyki drobiu i wymiana doświadczeń między hodowcami a pracowni-

kami naukowymi instytucji badawczych. Pierwsze Sympozjum Genetyki Drobiu odbyło się 6-8 października 1999 roku w Mariensee w Niemczech. Program obejmował 6 sesji tematycznych, w czasie których wygłoszono 16 referatów, oraz sesję plakatową, na której zaprezentowano wyniki około 40 prac badawczych.

Pierwsza sesja dotyczyła nowych osiągnięć w klonowaniu molekularnym i transgenezie ptaków. H. Sang z Instytutu Roslin (Szkocja) omówiła zalety i możliwości stosowania obecnych technik wprowadzenia obcych genów do genomu kury w różnych stanach rozwojowych – od gamety do zarodka w zniesionym jajku. U zwierząt geny mogą być przenoszone kilkoma drogami. Jedną z często stosowanych technik jest wstrzykiwanie obcego DNA do przedjądra zapłodnionego jajka. Drugą metodą jest przenoszenie obcego materiału dziedzicznego przy pomocy wektorów retrowirusowych. Metoda ta, choć skuteczna, ma wielu przeciwników i nie będzie wykorzystywana na szerszą skalę. Trzecia metoda polega na wykorzystaniu pierwotnych komórek zarodkowych (ESC), które mogą być transfekowane *in vitro* i następnie wprowadzone do zygoty lub zarodka biociców. Czwartą drogą, ostatnio intensywnie rozwijaną, jest zastosowanie technik klonow-

wania, gdzie transgeniczne jądro utworzone *in vitro* jest przenoszone do jaja pozbawionego jądra. Prowadzone w Instytucie Roslin badania nad transgenezą nakierowane są głównie na poszukiwanie wydajniejszych wektorów, zwiększających częstość integracji obcych genów po ich wstrzyknięciu do zygoty wyizolowanej krótko po zapłodnieniu. Naukowcy z Roslin uważają, że pierwsze komercyjne ptaki transgeniczne zostaną użyte przede wszystkim do produkcji białek leczniczych. Produkcja tych białek w jajach byłaby znacznie tańsza, niż w przypadku mleka krów czy innych zwierząt transgenicznych. Nie wiadomo jednak, czy białka syntetyzowane przez jajowód kur transgenicznych będą postranlacyjnie zmodyfikowane do takiej postaci, jaka występuje u ludzi.

W drugim referacie tej sesji J. Rottman z Uniwersytetu Technicznego z Monachium przedstawił wyniki prac nad otrzymywaniem kurcząt transgenicznych, z użyciem transfekowanych plemników jako wektorów do przenoszenia obcych genów. Metoda ta jest tania i łatwo w niej przeprowadzać wszystkie manipulacje. Dotychczasowe próby z użyciem samego DNA nie były obiecujące, więc jako mediatorów użyto liposomów, które opłaszczając plazmidowy DNA chronią go przed degradacją i ułatwiają jego przejście przez błonę plemnika. Plazmidowy DNA, zawierający konstrukcje genowe HbsAg i Lac Z połączone z promotorem lekkiego łańcucha miozyny kury, został upakowany w liposomach i inkubowany przez 30 minut z nasieniem kogutów. Następnie kury unasieniano otrzymaną mieszaniną liposomowo-plemnikową. Po zapłodnieniu badano zarodki w różnych stadiach rozwojowych na obecność i ekspresję obcego genu. Przy pomocy tej prostej metody uzyskiwano około 60% ptaków transgenicznych z jaj zapłodnionych.

W czasie drugiej sesji omówiono założenia metodyczne i przedstawiono pierwsze wyniki badań przeprowadzonych w ramach finansowanego przez Unię Europejską projektu „Strategia i zastosowanie technik molekularnych do oceny bioróżnorodności zasobów genetycznych u drobiu”. W projekcie tym, zwanym w skrócie AVIANDIV, którego głównym koordynatorem jest S. Weigend z Niemiec, a współkoordynatorami M. Tixier-Boichard z Francji i J. Hillel z Izraela, współpracuje osiem laboratoriów z sześciu krajów Europy. Ponadto 14 innych partnerów z różnych krajów zostało zaangażowanych do pobierania próbek krwi i zbierania informacji o pochodzeniu, prowadzonej selekcji, cechach fenotypowych i utrzymaniu 50 różnych ras i populacji kur, w tym naszej rodzimej zielonóżki kuropatwianej ze stada zachowawczego w Chorzelowie oraz czerwonego kura dżungli, jako przodka wszystkich ras kur. Celem projektu jest ocena genetycznej zmienności między i wewnątrz ras, rodów czy wysoko wyselekcjonowanych linii kur. Wyniki badań posłużą do wybrania zasobów genetycznych o unikalnych kombinacjach alleli, warunkujących wysoki poziom cech przydatnych w hodowli, które będą zachowywane. Obecnie w przemysłowej hodowli drobiu, do produkcji jaj czy mięsa brojlerowego, używa się mieszańców trzech lub czterech wysoko wyselekcjonowanych linii prarodzicielskich wyprowadzonych z wąskiej bazy, tzn. zaledwie kilku ras, co bardzo zawęży różnorodność genetyczną. Pozostałym, mniej przydatnym rasom grozi wyginiecie. Z biologicznego punktu widzenia zachowanie tych unikalnych zasobów genetycznych jest bardzo ważne, gdyż są to często rasy odporne na choroby i trudne warunki środowiska. Ponadto, z historycznego punktu widzenia, liczne lokalne rasy kur mogą służyć jako świadectwo osiągnięć wielu pokoleń hodowców. Potencjalnie najważniejszymi zasobami gene-

tycznymi są populacje najbardziej odległe wewnątrz gatunku i wykazujące unikalne allele albo ich kombinacje. Ostatnie postępy w technologii molekularnej otworzyły nowe możliwości oceny genetycznej zmienności na poziomie DNA. Wysoko informatywnymi markerami do tej oceny są obecnie szeroko stosowane sekwencje mikrosatelitarne DNA. Ten rodzaj markerów jest nie tylko przydatny w mapowaniu cech ilościowych (QTL), jakimi są cechy użyteczne gospodarczo, ale i w badaniach pochodzenia oraz zależności genetycznych wewnątrz i między populacjami.

Pierwsze wyniki badań przeprowadzonych w ramach międzynarodowego projektu oceny bioróżnorodności u kur przedstawił prof. J. Hillel z Izraela. Użyto 22 markery mikrosatelitarne DNA do analizy genotypów 43 ras kur. DNA do analizy izolowano z wymieszanej krwi 50 ptaków każdej rasy. Częstość heterozygot dla 22 markerów mikrosatelitarnych wynosiła od 26% do 66%, ze średnią 47%. Liczba alleli na jeden locus u poszczególnych ras wahała się od 3 do 23, ze średnią 10,1. Średnia częstość heterozygot dla poszczególnych markerów wynosiła 18% u najmniej polimorficznej rasy Padova, a 61% u najbardziej polimorficznego czerwonego kura dżungli. Na podstawie polimorfizmu użytych markerów opracowano ogólny obraz bioróżnorodności. Genetyczne pokrewieństwo między badanymi rasami różniło się znacznie od oczekiwanego, wynikającego z pochodzenia i podobieństwa cech fenotypowych.

M. Tuisula-Haawisto z Finlandii przedstawiła rezultaty badań nad mapowaniem genów cech ilościowych (QTL) odpowiedzialnych za produkcję i jakość jaj. Populację do mapowania stanowiła krzyżówka dwóch ras kur nieśnych – rhode island red i biały leghorn. W całej trzypokoleniowej populacji przeprowadzono analizę genotypów przy użyciu markerów mikrosatelitarnych. Skonstruowano genetyczną mapę markerową zawierającą 13 grup autosomalnych sprzężeń i grupę sprzężeniową chromosomu Z. Zmapowano około 2/3 genomu kury. Analiza sprzężeń pomiędzy genotypowanymi markerami mikrosatelitarnymi pozwoliła na ustalenie, przy 1% poziomie istotności, 9 regionów QTL związanych z jakością i produkcją jaj, masą ciała oraz dojrzałością płciową.

Na sympozjum zaprezentowano także wyniki badań przeprowadzonych w IGiHZ PAN w Jastrzębcu, gdzie realizowany jest projekt mapowania genomu kury. W populacji specjalnie wyprowadzonej do mapowania przeprowadzono analizy genotypów za pomocą 21 markerów mikrosatelitarnych. Wszystkie badane loci są polimorficzne, liczba alleli waha się od 2 do 5 w locus. Zaobserwowano 16 mikrosatelitów informatywnych dla rasy zielonóżka kuropatwiana i 10 dla rasy rhode island red. Obserwowana heterozygotyczność waha się od 0,49 do 0,77 w locus. Wykorzystując program CRIMAP obliczono sprzężenia i kolejność między badanymi mikrosatelitami. W przypadku 14 sekwencji mikrosatelitarnych stwierdzono różnice między osobnikami posiadającymi oba allele od rasy zielonóżka kuropatwiana, oba allele od rasy rhode island red oraz osobnikami o genotypie mieszanym (po jednym allelu pochodzącym od każdej z ras). Ostatecznym celem będzie identyfikacja polimorficznych miejsc sprzężonych z badanymi cechami użyteczności nieśnej i wykorzystanie ich jako markerów w programach hodowlanych.

Europejskie projekty mapowania genomu zwierząt skupiają się głównie na poszukiwaniu genów cech ilościowych (QTL). G. Albers z Holandii przedstawił perspektywy ich zastosowania w programach hodowlanych. Współczesne badania molekularne na zwierzętach hodowlanych dostarczają

wiele informacji o domniemanej lokalizacji i efektach genów głównych. Pozycja genu czy markeru genu na mapie jest zawsze tylko pozycją przybliżoną i może się okazać, że będzie ona nieco inna w różnych populacjach. Oznacza to, że każde wykorzystanie markerów genetycznych w selekcji musi być poprzedzone stwierdzeniem sprzężeń między markerem a odpowiednim locus wewnątrz każdej rodziny, co bardzo podraża koszty zastosowania. Selekcja wspomagana markerami (MAS) może być uzupełnieniem tradycyjnych programów hodowlanych. Jest szczególnie przydatna w selekcji zwierząt we wczesnym okresie życia i dla cech, które nie mogą być mierzone u rodziców, np. cech odporności czy jakości tuszy. Ponadto markery mogą być bardzo użyteczne do wykluczania niepożądanych genów oraz identyfikacji genów nowo wprowadzonych do populacji, tzw. introgresji. Wykrycie znaczącego QTL nie jest gotowym narzędziem selekcji do wykorzystania w programie hodowlanym. Wykorzystanie to wiąże się jeszcze z dużym kosztem przetestowania wybranych do hodowli zwierząt (pobranie prób, analiza fenotypu, genotypu, oszacowanie sprzężenia między markerem a genem). Autor przewiduje, że w przyszłości MAS nie będzie stosowany na dużą skalę w programach hodowlanych. Raczej oczekuje się, że markery będą pierwszym stopniem w poszukiwaniu konkretnych genów powodujących pożądany efekt, a bezpośrednia selekcja na takie geny będzie zasadniczą częścią przyszłych programów hodowlanych.

M. Schwerin z Dummerstorfu (Niemcy) przedstawił metodę mikrodysekcji chromosomów, używaną do tworzenia mapy fizycznej wysycenia markerami i sekwencjami ulegającymi ekspresji (EST). Metoda polega na mikrodysekcji pojedynczego chromosomowego fragmentu, jego amplifikacji i tworzeniu markerów DNA oraz sekwencji ulegających ekspresji (EST), które są dla niego specyficzne.

W czasie sesji „Interakcja genotyp x środowisko” A. Cahner z Rehovot (Izrael) przedstawił wyniki kilkunastu doświadczeń dotyczących badań interakcji między pojedynczymi genami, poligenami, genotypami a środowiskiem oraz ich implikacje w hodowli i produkcji kur brojlerowych. Badania zachowania się poszczególnych genotypów w różnych warunkach środowiskowych, np. w niskich i wysokich temperaturach otoczenia, mają duże znaczenie w hodowli brojlerów. Identyfikacja sekwencji DNA genów głównych czy QTL odpowiedzialnych za adaptacje do specyficznych warunków środowiskowych lub markerów sprzężonych do tych loci może być wykorzystana w selekcji wspomaganej markerami (MAS). Jednak interakcja genotyp x środowisko może kolidować z wykorzystaniem takich loci, ponieważ te, które są i-dentyfikowane w danym środowisku mogą nie być znajdowane w innym, na skutek braku lub zmian w ekspresji. Dlatego też programy hodowlane, wykorzystujące zaawansowane badania genetyczne i nowoczesne technologie hodowlane, muszą zawsze uwzględniać efekt interakcji genotyp x środowisko.

W sesji plakatowej większość prezentowanych prac dotyczyła wykorzystania sekwencji mikrosatelitarnych jako markerów w mapowaniu cech użytkowych u kur typu mięsnego i nieśnego oraz w analizie genetycznej stad zachowawczych. Zespół badawczy Instytutu Roslin w Szkocji, za pomocą analizy sprzężeń i specyficznego markeru genu enzymu aromatazy, który to enzym katalizuje ostatni etap biosyntezy hormonów steroidowych, wykazał, że gen ten znajduje się nie na pierwszym chromosomie – jak do tej pory uważano – a w grupie sprzężeniowej przypisanej do jednego z mikrochromosomów.

Zespół badawczy z Rehovot, analizując 20 cech użytkowych i 150 sekwencji mikrosatelitarnych DNA w wielopokoleniowej populacji referencyjnej kur brojlerowych stwierdził, że 30 z analizowanej liczby markerów miało istotny związek z cechami użytkowymi. Na tej podstawie opracowano program hodowlany oparty na selekcji wspomaganą markerami (MAS).

Naukowcy z Wageningen (Holandia) przedstawili dwa podejścia do mapowania genów kontrolujących jedną z części występujących cech zachowania się u kur, a mianowicie wydziobywania piór. W pierwszym przeprowadzono analizę sprzężeń wysokopolimorficznych markerów DNA z cechami fenotypowymi i parametrami fizjologicznymi w pokoleniu F₂ – z krzyżówki między liniami z wysokim i niskim stopniem skłonności do wydziobywania piór. Ponadto, przy użyciu ludzkich genów receptorów glikortykoidowych (GR) i mineralokortykoidowych (MR), przeszukano biblioteki komplementarnego DNA z mózgu kurczątków. Dane te posłużyły do analizy QTL i i-dentyfikacji markerów sprzężonych z genami kontrolującymi wydziobywanie piór.

K. Irgang i wsp. z Uniwersytetu Humbolta w Berlinie oszacowali dwukrotnie w ciągu kilku lat inbred w stadzie zamkniętym kur rasy new hampshire metodą tradycyjną (współczynnika inbredu wg wzoru Wrighta) i analizą molekularną. Użyto 20 sekwencji mikrosatelitarnych DNA jako loci markerowych, w tym 6 znajdujących się w genach. Spodziewany wzrost inbredu szacowany za pomocą współczynnika inbredu był niższy niż inbred zrealizowany, czyli określony przy udziale markerów molekularnych. Ponadto, w odróżnieniu od pozostałych, 14 markerów znajdujących się w regionach niekodujących wykazało wzrost homozygotyczności, a 6 mikrosatelitów zlokalizowanych w genach ujawniło średni wzrost heterozygotyczności. Wskazywałoby to na różne zachowanie się kodujących i niekodujących regionów, gdy wzrasta inbred.

Szerokie badania nad poszukiwaniem loci endogennych wirusów mających związek z indukowaniem nowotworu wirusem mięsaka Rousa u kur rodu B19 rasy biały leghorn przeprowadził zespół z Jouy-en-Josas (Francja). Trzy loci wirusów endogennych zostały zidentyfikowane, a obecność jednego z nich – ALVE1 – wyraźnie wskazuje na korelację z rozwojem nowotworu. Krzyżownie testowe między kurami mającymi locus ALVE1 a tymi, które były bez sekwencji endogennych retrowirusów potwierdziły związek ALVE1 z indukcją nowotworu. Jednakże stwierdzono również rozwój mięsaka u niektórych kur z brakiem locus ALVE1. Te dane sugerują, że ALVE1 może nie być bezpośrednio odpowiedzialny za rozwój nowotworu, ale może być markerem sprzężonym z locus odpowiedzialnym za ten fenotyp.

Naukowcy z IGIHZ PAN w Jastrzębcu, oprócz wyników prac nad mapowaniem genomu kury, przedstawili dwa inne doniesienia dotyczące nieprawidłowości chromosomowych u zarodków kur selekcionowanych rozbieżnie na występowanie wad szkieletowych i genetycznej analizie różnych ras gęsi przy użyciu techniki DNA fingerprinting. Pozostałe doniesienia dotyczyły różnych zagadnień związanych bezpośrednio z hodowlą kur.

W przeglądzie referatów i doniesień prezentowanych na sympozjum ograniczono się do przedstawienia najważniejszych, prezentujących nowe tendencje w genetyce drobiu, szczególnie z zakresu genetyki molekularnej.

Następne, II Sympozjum Genetyki Drobiu odbędzie się w 2001 roku w Budapeszcie.