

Rozwój markerowych map genomowych lisa pospolitego, lisa polarnego oraz jenota chińskiego

Izabela Szczербal, Honorata Fijak,
Marek Świtoński

Akademia Rolnicza w Poznaniu

Rodzina psowatych (*Canidae*) obejmuje 36 gatunków zwierząt, wśród których jest pies (*Canis familiaris*), lis pospolity (*Vulpes vulpes*), lis polarny (*Alopex lagopus*) oraz jenot chiński (*Nyctereutes procyonoides procyonoides*) [29]. Ze względu na cenną okrywą włosową dwa gatunki lisów oraz jenoty [1] utrzymywane są na fermach hodowlanych. Wielkość produkcji zwierząt futerkowych uzależniona jest od koniunktury na międzynarodowych rynkach futrzarskich i kształtuje ją wiele czynników, m.in. ceny skór na aukcjach, moda. Duży wpływ na wielkość produkcji futrzarskiej mają również działania ruchów ekologicznych. Protesty przeciwko złemu traktowaniu zwierząt spowodowały zamknięcie wielu ferm, ale z drugiej strony istotnie przyczyniły się do zmiany podejścia hodowców do zwierząt futerkowych. Przykładowo, w ostatnich latach obserwuje się duże zainteresowanie działaniami zmierzającymi do polepszenia dobrostanu zwierząt futerkowych utrzymywanych na fermach [6].

Gatunki z rodziny psowatych od wielu już lat stanowią interesujący obiekt badań cytogenetycznych ze względu na szeroko rozpowszechniony polimorfizm chromosomowy i kariotypowy [28]. Jednym z kierunków badawczych, aktualnie rozwijanym w odniesieniu do omawianych gatunków, jest mapowanie genomów. W ciągu ostatnich dwóch dziesięcioleci uruchomiono szereg programów dotyczących mapowania oraz sekwencjonowania genomów ssaków. Bardzo duży postęp w tej dziedzinie osiągnięto w przypadku genomu psa, dla którego opracowano markerową mapę genomu zawierającą blisko 10 000 markerów [7] oraz ustalono sekwencje jego genomu [14]. Wiedza zgromadzona o genomie psa z powodzeniem jest wykorzystywana do konstruowania map genomu gatunków blisko spokrewnionych, czyli lisa pospolitego, lisa polarnego oraz jenota chińskiego [27].

Pierwsze doniesienia o cytogenetycznej lokalizacji czterech markerów w genomie jenota chińskiego pochodzą z 1996 roku [16]. W tym samym czasie uruchomiono międzynarodowy projekt mapowania genomu psa DogMap, który istotnie wpłynął na intensyfikację badań dotyczących mapowania innych gatunków z rodziny psowatych. Szerzej zakrojone prace nad konstrukcją map genomowych najwcześniej podjęto dla lisa pospolitego. Przy użyciu techniki hybrydyzacji komórek somatycznych (HKS) przypisano 36 markerów genetycznych do 15 autosomów (spośród 16) i do heterosomu X [20]. Następnie, w ramach projektu mapowania genomu psa, w który intensywnie zaangażowany był zespół z Katedry

Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt AR Poznań, zlokalizowano 30 markerów mikrosatelitarnych lisa pospolitego, stosując technikę fluorescencyjnej hybrydyzacji „*in situ*” – tzw. FISH [3, 31]. Było to podyktowane możliwością rozpoznawania chromosomów psa, na podstawie homologii z ramionami chromosomowymi lisa pospolitego. Chromosomy lisa pospolitego ($2n=34+B$) są znacznie łatwiejsze w identyfikacji niż chromosomy psa ($2n=78$), a równoczesna hybrydyzacja wybranych sond na preparatach chromosomowych, zawierających utrwalone metafazy mitotyczne lisa pospolitego i psa, znacznie ułatwiła fizyczne mapowanie genomu psa.

Możliwość wykorzystania sond pochodzących z genomowej biblioteki kosmidowej psa przyczyniła się do uruchomienia projektów mapowania fizycznego genomów lisa polarnego i jenota chińskiego, które w całości wykonane były w Katedrze Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt AR Poznań. W latach 2001-2003 zmapowano ponad 30 markerów w genomie obu gatunków [18, 23]. Sondy użyte w badaniach zawierały głównie anonimowe sekwencje mikrosatelitarne i, jak się okazało, nie były równomiernie rozproszone w genomie. Zmapowano wówczas także kilka sekwencji kodujących: gen dla 5S rRNA oraz dwie rodziny genów keratynowych w genomie czterech badanych gatunków psowatych [17, 21].

Ważnym etapem okazało się utworzenie biblioteki genomowej psa w sztucznych chromosomach bakteryjnych – BAC [19]. Stworzyło to warunki do podjęcia na szerszą skalę mapowania genów procedurą FISH. Biblioteka BAC przeszukiwana była przy użyciu techniki PCR, z zastosowaniem starterów specyficznych dla wybranych sekwencji genowych oraz motywów mikrosatelitarnych. Takie postępowanie pozwoliło na identyfikację 14 klonów bakteryjnych, zawierających sekwencje genowe i mikrosatelitarne [9, 10, 11, 12, 24]. W badaniach tych ustalono położenie chromosomowe wytypowanych markerów w genomie psa, lisa pospolitego i jenota.

Charakterystyczną cechą genomu lisa pospolitego i jenota chińskiego jest występowanie zmiennej liczby chromosomów B. Chromosomy te charakteryzują się niestabilnym zachowaniem w podziałach komórkowych, stąd ich liczba jest zmienna nie tylko między osobnikami, ale i komórkami tego samego organizmu. Obecność chromosomów B u ssaków jest zjawiskiem stosunkowo rzadkim, tym samym psowate stanowią interesujący model badawczy. Chromosomy B lisa pospolitego i jenota różnią się pod względem wielkości i pochodzenia. U lisa pospolitego małe chromosomy B występują w liczbie od 0 do 8, przy czym najczęściej spotyka się zwierzęta z kariotypami o 2 lub 3 chromosomach B [28]. Chromosomy B jenotów są średniej wielkości akrocentrykami i występują w liczbie od 0 do 4 [22]. Badania przy wykorzystaniu fluorescencyjnej hybrydyzacji „*in situ*” ujawniły obecność różnych sekwencji w tych chromosomach. Od wielu już lat powszechna była hipoteza, że chromosomy B lisa pospolitego są centrycznymi fragmentami pozostałymi po translokacjach robertsonowskich [5]. Została potwierdzona przez zastosowanie techniki FISH z sondą centromerową [32]. Natomiast w chromosomach B jenota chińskiego ujawniono obecność dwóch rodzajów sekwencji powtarzalnych, to znaczy takich, które obecne są w telomerach – tzw. telomero-podobne [30] oraz sekwencji, które występują w obszarach jąderkotwórczych ssaków – tzw. sekwencji NOR-podobnych [25]. Najnowszym doniesieniem na temat mapy fizycznej chromosomów B jenota i lisa pospolitego są wyniki badań wykonanych przez Graphodatsky'ego i wsp. [4]. Autorom udało się zlokalizować w chromosomach B obu gatunków gen *C-KIT*, który równocześnie występuje w autosomach podstawowego zestawu (A).

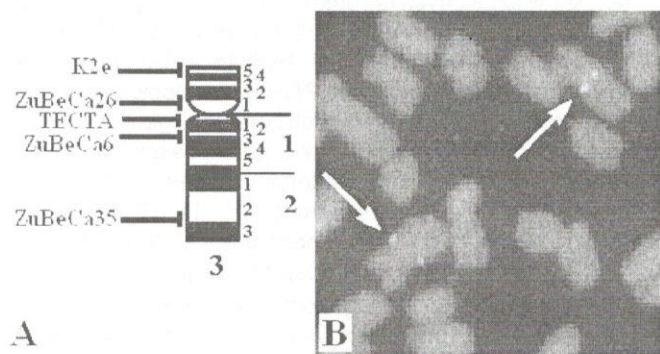
Gatunek	Haploidalna liczba chromosomów (n)	Loci				
		ogółem	genowe	genowe	sekwencja	technika
				z sekwencją mikrosatelitarną	mikrosatelitarna	badawcza*
Lis pospolity	17+B	86	40	11	35	FISH, MR, HKS
Lis polarny	25	47	4	11	32	FISH
Jenot chiński	26+B	52	9	11	32	FISH

Tabela
Nasylenie loci markerowymi cytogenetycznych map genomu lisa pospolitego, lisa polarnego i jenota chińskiego

*FISH – fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*; MR – mapowanie radiacyjne; HKS – hybrydyzacja komórek somatycznych

Jak do tej pory są to jedne informacje o obecności konkretnego genu w chromosomach B psowatych.

Aktualny stan map cytogenetycznych zwierząt futerkowych z rodziny psowatych można uznać za zadowalający (tab.). Najbardziej rozwiniętą mapę fizyczną posiada lis pospolity, z 86 zmapowanymi loci. Markery genetyczne zmapowano we wszystkich chromosomach, poza chromosomem 13 oraz heterosomem Y. Większość autosomów ma zmapowane co najmniej dwa markery. Chromosomy najbogatsze w markery to chromosom 2 (12 zmapowanych loci) oraz chromosom 5 (9 zmapowanych loci).



Rys. Mapa cytogenetyczna chromosomu 3 jenota chińskiego; **A** – idiogram chromosomu 3 z zaznaczonymi loci markerowymi; **B** – fragment płytki metafazowej po hybrydyzacji (FISH) z sondą zawierającą sekwencję mikrosatelitarną ZuBeCa6 (strzałki wskazują sygnały hybrydyzacyjne na obu chromatydach chromosomu 3. Oznaczenia symboli: K2e – locus genu białka keratynowego K2e; TECTA – locus genu TECTA; ZuBeCa6, 26 i 35 – loci anonimowych sekwencji mikrosatelitarnych

Łączna liczba markerów zlokalizowanych w cytogenetycznej mapie genomu jenota chińskiego wynosi 52. Wśród nich 32 sondy to markery mikrosatelitarne, natomiast w 20 pozostałych obecne były sekwencje genowe lub genowe i mikrosatelitarne. Należy zaznaczyć, że pokrycie genomu tego gatunku jest nierównomierne, bowiem są tam chromosomy z dużą liczbą zlokalizowanych loci, np. chromosom 5, w którym zmapowano dotąd 11 markerów, czy chromosomy 3 i 9, gdzie ustalono położenie pięciu loci. Z drugiej strony w siedmiu autosomach oraz heterosomie Y nie zlokalizowano żadnego locus. Liczba markerów genetycznych zlokalizowanych za pomocą fluorescencyjnej hybrydyzacji „*in situ*” (FISH) w chromosomach lisa polarnego wynosi 47. Zostały one przypisane do 17 autosomów i heterosomu X. Najwięcej zmapowanych markerów posiada chromosom 12, bo aż 7, natomiast 8 chromosomów nie ma zmapowanego markera.

Obok prac nad mapowaniem fizycznym podjęto także działania zmierzające do skonstruowania mapy genetycznej. Pojedyncze grupy sprzężeniowe przypisano do chromosomów lisa pospolitego i polarnego [13], nie podjęto natomiast prób mapowania sprzężeniowego genomu jenota chińskiego. Ostatnio silnie rozbudowana została mapa sprzężeniowa lisa polarnego – posiada ona 89 markerów przypisanych do 17 grup sprzężeniowych, a długość genomu została określona na 1658 cM [8].

Stopień zaawansowania map fizycznych zwierząt futerkowych jest oczywiście niewielki, jeśli porównać go z mapą fizyczną psa. We wszystkich chromosomach tego gatunku zlokalizowano 10 000 markerów, wykorzystując metodę mapowania radiacyjnego (MR). Ponad 800 z tych markerów zlokalizowano także za pomocą metody FISH [2]. W największych autosomach liczba markerów wynosi około 200, np. w chromosomie 1 – 220 markerów, w chromosomie 2 – 181 markerów, czy w chromosomie 7 – 173 markery. Liczba markerów w najmniejszych autosomach waha się od 32 (chromosom 38) do 94 (chromosom 27). Najbardziej ubogi w markery jest heterosom Y, w którym zmapowano tylko 10 markerów.

Ten ogromny stopień nasycenia mapy fizycznej genomu psa jest wynikiem prowadzonych od wielu lat badań przez czołowe światowe zespoły naukowe. Pies jest ważnym gatunkiem towarzyszącym człowiekowi oraz traktowany jest jako gatunek modelowy [15], dlatego poznanie genów odpowiedzialnych za choroby genetyczne i cechy behawioralne stanowi podstawowy cel tych badań [26]. Natomiast markerowa mapa genomu gatunków zwierząt futerkowych może stanowić narzędzie przydatne do poszukiwania genów odpowiedzialnych za ważne cechy produkcyjne, takie jak: wielkość i jakość okrywy włosowej, plenność czy zachowanie.

Literatura: 1. Barabasz B., 1993 – Przegląd Hodowlany 2, 23-24. 2. Breen M., Hitte C., Lorentzen T.D., Thomas R., Cadieu E., Sabacan L., Scott A., Evanno G., Parker H.G., Kirkness E.F., Hudson R., Guyon R., Mahairas G.G., Gelfenbeyn B., Fraser C.M., Andre C., Galibert F., Ostrander E.A., 2004 – BMC Genomics 5, 65. 3. Dolf G., Schelling C., Stahlberger-Saitbeckova N., Fu B., Schläpfer J., Yang F., 2000 – Animal Genetics 31, 411-412. 4. Graphodatsky A.S., Kukekova A.V., Yudkin D.V., Trifonov V.A., Vorobieva N.V., Beklemisheva V.R., Perelman P.L., Graphodatskaya D.A., Trut L.N., Yang F., Ferguson-Smith M.A., Acland G.M., Aguirre G.D., 2005 – Chromosome Research 13, 113-122. 5. Gustavsson I., Sund C.O., 1965 – Hereditas 54, 249-254. 6. Hari M., 2000 – Scientifur 24, 3-10. 7. Hitte C., Madeoy J., Kirkness E.F., Priat C., Lorentzen T.D., Senger F., Thomas D., Derrien T., Ramirez C., Scott C., Evanno G., Pullar B., Cadieu E., Oza V., Lourgant K., Jaffe D.B., Tacher S., Dreano S., Berkova N., Andre C., Deloukas P., Fraser C., Lindblad-Toh K., Ostrander E.A., Galibert F., 2005 – Nature Reviews in Genetics 6, 643-648. 8. Keski-Nisula S., Elo K., Tähtinen J., Ojala M., 2005 – Book of Abstracts of the 56th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Uppsala, Sweden 5-8

June pp. 100. 9. Klukowska J., Szczerbal I., Rickli O., Świtoński M., Dolf G., Schelling C., 2004 – Animal Genetics 35, 252-253. 10. Klukowska J., Szczerbal I., Wengi-Piasecka A., Świtoński M., Schelling C., Gmur A., Dolf G., 2004 – Animal Genetics 35, 75-76. 11. Klukowska J., Szczerbal I., Wengi-Piasecka A., Świtoński M., Schelling C., Gmur A., Dolf G., 2004 – Animal Genetics 35, 404-407. 12. Klukowska-Roetzler J., Szczerbal I., Braunschweig M., Świtoński M., Schelling C., Dolf G., 2005 – Animal Genetics 36, 173-175. 13. Klukowska J., Szydtowski M., Świtoński M., 2002 – Hereditas 137, 234-236. 14. Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mikkelsen T.S., Karlsson E.K., Jaffe D.B., Kamal M., i wsp., 2005 – Nature 438, 803-819. 15. Ostrander E.A., Comstock K.E., 2004 – Current Biology 14, R98-9. 16. Park J.P., 1996 – Cytogenetics and Cell Genetics 74, 133-7. 17. Pienkowska A., Schelling C., Opiola T., Rozek M., Barciszewski J., 2002 – Cytogenetic and Genome Research 97, 187-190. 18. Rogalska-Niznik N., Szczerbal I., Dolf G., Schlapfer J., Schelling C., Świtoński M., 2003 – Journal of Heredity 94, 89-93. 19. Schelling C., Schlapfer J., Billault A., Guziewicz K., Gmur A., Katmann I., Pineroli B., Colomb B., Rickli O., Wittwer C., Piasecka A., Dolf G., 2002 – Journal of Animal Breeding and Genetics 119, 400-401. 20. Serov O.L., Rubtsov N.B., 1998 – AgBiotech News and Information 6, 179-185. 21. Szamalek J.M., Szczerbal I., Rogalska-

-Niznik N., Świtoński M., Ladon D., Schelling C., 2002 – Animal Genetics 33, 404-405. 22. Szczerbal I., Kaczmarek M., Świtoński M., 2005 – Folia Biologica (Krakow) 53, 155-159. 23. Szczerbal I., Rogalska-Niznik N., Schelling C., Schlapfer J., Dolf G., Świtoński M., 2003 – Cytogenetic and Genome Research 102, 267-271. 24. Szczerbal I., Klukowska-Roetzler J., Dolf G., Schelling C., Świtoński M., 2006 – Journal of Animal Breeding and Genetics 123, 337-342. 25. Szczerbal I., Świtoński M., 2003 – Caryologia 56, 213-216. 26. Świtoński M., Hadyńska A., Szczerbal I., 2005 – Przegląd Hodowlany 6, 21-23. 27. Świtoński M., Szczerbal I., Nowacka J., 2004 – Journal of Applied Genetics 45, 195-214. 28. Świtoński M., Rogalska-Niznik N., Szczerbal I., Baer M., 2003 – Caryologia 56, 375-385. 29. Wayne R.K., 1993 – Trends in Genetics 9, 218-224. 30. Wurstler-Hill, D.H., Ward O.G., Davis B.H., Park J.P., Meyne J., 1988 – Cytogenetics and Cell Genetics 49, 278-281. 31. Yang F., Milne B.S., Schelling C., Dolf G., Schlapfer J., Switonski M., Ladon D., Pienkowska A., Bosma A.A., Sargan D.R., Ferguson-Smith M.A., 2000 – Chromosome Research 8, 93-100. 32. Yang F., O'Brien P.C.M., Milne B.S., Graphodatsky A.S., Solanky N., Trifonov V., Rens W., Sargan D., Ferguson-Smith M.A., 1999 – Genomics 62, 189-202.

Montbeliarde – ekonomiczna rasa bydła

Marcin Gołębiowski, Piotr Brzozowski

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego

Dążenie hodowców do poprawienia wydajności krów mlecznych pociąga za sobą szereg następstw, głównie o charakterze ekonomicznym. Z jednej strony powoduje to wzrost przychodu jednostkowego od krowy, a z drugiej – generuje pewne koszty. Nasuwają się więc pytania: Czy warto śrubować wydajność zwierząt w nieskończoność? Czy rzeczywiście przynosi to spodziewany efekt w postaci zwiększonego dochodu hodowcy? Raczej nie, gdyż dokładnie poznane są prawa ekonomii dotyczące malejącej efektywności nakładów. W odniesieniu do sektora mleczarskiego wiadomo, że w miarę postępującej intensyfikacji chowu bydła nakłady na zwiększenie wydajności mlecznej będą dawały coraz mniejszy wzrost produkcji. Przekroczenie kosztu granicznego oznacza dla hodowcy stratę.

W ostatnich kilku latach nastąpił gwałtowny wzrost wydajności mlecznej krajowego pogłowia bydła czarno-białego, głównie dzięki krzyżowaniu wypierającemu z rasą holsztyńsko-fryzyjską. Postępujący wzrost mleczności powoduje u krów pojawienie się szeregu problemów. U wysoko wydajnych krów występują problemy związane z rozrodem, aparatem ruchowym, ze zdrowotnością wymienia i chorobami metabolicznymi. Wymagają one doskonałych warunków środowiskowych, właściwego żywienia i opieki, na które reagują wysoką wydajnością. Jednak nie każdy rolnik posiada wiedzę czy warunki, umożliwiające mu uporanie się z tymi problemami. Intensyfikacja łączy się przede wszystkim z lawinowo rosnącymi nakładami i pogorszeniem dochodowości. Czy

istnieje zatem alternatywa? Mogą nią być mniej intensywne rasy bydła mlecznego, między innymi rasa montbeliarde. Krowy tej rasy odznaczają się dużo lepszymi cechami funkcjonalnymi, mają mniejsze wymagania żywieniowe oraz produkują stosunkowo dużo mleka, o korzystnej zawartości składników. Świadczyć o tym może wydajność francuskich krów tej rasy, będących pod oceną użyteczności mlecznej, które w 2005 roku, w 305-dniowej laktacji, dały 7697 kg mleka, o zawartości 3,91% tłuszczu i 3,45% białka (ICAR).

Bydło rasy montbeliarde jest już hodowane w Polsce, istnieje też program genetycznego doskonalenia rasy, a od 2001 roku prowadzona jest kontrola użyteczności mlecznej. W pierwszym roku oceny od 58 krów uzyskano średnio 6495 kg mleka, o zawartości 3,90% tłuszczu i 3,33% białka (wydajność tłuszczu 253 kg, białka 216 kg). Bydło tej rasy charakteryzuje się przy tym dobrymi cechami opasowymi i rzeźnymi. Rasa montbeliarde należy do kontynentalnego bydła czerwono-białego. We Francji istnieje populacja bydła pod nazwą Pie Rouge, do której zalicza się trzy rasy – montbeliarde, abondance oraz Pie Rouge de l'Est (czerwono-biała francuska). Pomimo tego, że bydło rasy montbeliarde ma zasięg międzykontynentalny (hodowane jest między innymi w Tunezji i w RPA), za ojczyznę i zarazem kolebkę hodowli tej rasy uznawana jest Francja, chociaż przodkowie tej doskonałej rasy bydła zostali sprowadzeni ze Szwajcarii przez Mennonitów w XVII w. Rasa ta, znana pierwotnie pod nazwą bydła alzacckiego, wywarła ogromne wrażenie na hodowcach francuskich podczas wystaw hodowlanych w XIX wieku. Miało to ogromny wpływ na dalszy rozwój jej hodowli. Współczesna nazwa rasy – montbeliarde została zaakceptowana dzięki staraniom M. Boulland'a, który przyczynił do oficjalnego jej uznania w 1889 roku. Rok później zostały założone pierwsze księgi rasy montbeliarde w Besancon, a w 1901 roku uformował się pierwszy związek hodowców tej rasy.

We Francji największe skupisko rasy montbeliarde występuje w departamencie Doubs (rejon Franche-Comté). Zwierzęta te często utrzymywane są w gospodarstwach położonych ponad 700 m n.p.m. i tam wypasane na pastwiskach. Bardzo trudne warunki klimatyczne, panujące w tym rejonie,