

w głównej mierze DNA *finger printing*. Przykładowo, geny przestały być anonimowe – potrafimy coraz więcej z nich przypisać konkretnym chromosomom i zlokalizować je na chromosomie. Dysponujemy dokładniejszą, niż opartą np. na grupach krwi, identyfikacją zwierząt, co sprzyja dokładności rodowodów, a tym samym wiarygodności przewidywanych wartości hodowlanych, zwłaszcza w systemach, w których zaangażowanych jest wielu ojców do uzyskania jednej ciąży (np. zwierzęta futerkowe). Ponadto łatwiej jest udokumentować pochodzenie zwierząt w przypadkach kradzieży, czy też prześledzić zagrożenie epizootyczne. Znajomość polimorfizmu w populacjach zagrożonych wyginięciem pozwala na zdecydowanie, które populacje powinny być zachowywane w przypadku rywalizacji o środki. Bardziej konserwatywne, dziedziczone w linii matczynej, DNA mitochondrialne umożliwia nam bliższe prześledzenie historii i spokrewnienia populacji.

Przyszłość

Coraz więcej informacji molekularnej pojawiać się będzie w ofercie dla hodowców. Cechy i korelacje między nimi zmieniają się w czasie. Allele i ich kombinacje pojawiają się w różnych środowiskach. Intensywne wykorzystanie genów głównych w selekcji cech ekonomicznie ważnych wymagać będzie monitorowania ich wpływu na cechy adaptacyjne. Istnie-

je wciąż potrzeba zdefiniowania wielu cech, zarówno z punktu widzenia celu hodowlanego (ekonomicznego), jak i z punktu widzenia zrozumienia ścieżek od genotypu do fenotypu. Trzeba się skłaniać ku pogładowi, że dużo czasu upłynie, zanim klasyczna selekcja stanie się zbędna, a tymczasem przyszłość hodowli leży w połączeniu wysiłków genetyki molekularnej i ilościowej. Ta druga jest wciąż ważniejszym składnikiem tego związku.

W ciągu roku, jaki niemal upłynął od mojego poprzedniego wystąpienia na ten temat, zaszło jeszcze jedno istotne zdarzenie. Ignacy Misztal, w swoim artykule z 2006 roku, zaproponował, żeby, w celu określenia perspektywy powodzenia wykorzystania selekcji wspomaganą markerami, obserwować postęp uzyskiwany przez grupę naukowców z korporacji Monsanto (kierowanej przez dr. M. Louhuisa) w hodowli trzody chlewnej. Grupa ta składała się z 15 naukowców i wspomagana była wybitnymi konsultantami. Sama korporacja Monsanto znana jest z umiejętności definiowania istotnych problemów i powodzenia w uzyskiwaniu finansowania swoich projektów. Niestety grupa ta została zlikwidowana.

Spis piśmiennictwa związany z tym artykułem dostępny jest w publikacji: Łukaszewicz M., 2006 – Genetyka molekularna w hodowli zwierząt. Roczniki Naukowe PTZ, t. 2, supl. 2, 9-20.

Analiza genetyczna uwarunkowań produktywności i zdrowotności zwierząt

Krystyna M. Charon

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Ostatnie lata przyniosły ogromny postęp w mapowaniu *loci* i regionów chromosomowych zawierających *loci*, co ma istotny wpływ na ważne ekonomicznie cechy produkcyjne zwierząt hodowlanych. Osiągnięcia te powinny być wykorzystywane w programach hodowlanych, w doskonaleniu zwierząt drogą selekcji bezpośredniej (tzw. GAS – gene-assisted selection) lub selekcji opartej na markerach genetycznych (tzw. MAS – marker-assisted selection) [4]. W obu rodzajach selekcji, jako kryterium wyboru osobnika przyjmuje się genotyp tego osobnika w *locus* genu głównego (GAS) lub w *locus* markera genetycznego (MAS), zidentyfikowany metodami genetyki molekularnej.

Wykorzystanie w selekcji informacji o genotypie osobnika jest możliwe u zwierząt we wczesnym okresie ich życia, często długo przed uzyskaniem danych fenotypowych o ich użyteczności. To z kolei stwarza szansę na szybki postęp genetyczny zarówno w odniesieniu do cech produkcyjnych, jak i zdrowotności zwierząt. Dlatego w wielu krajach prowadzone

są intensywne badania zmierzające do identyfikacji *loci*, warunkujących cechy ważne.

W ustalaniu genetycznego podłoża cech użytkowych zwierząt stosowane są dwa zasadnicze podejścia:

- ♦ Tradycyjna analiza zmienności danej cechy w populacji, która pozwala na ustalenie jej charakteru dziedziczenia – monogenicznego (jeden gen warunkuje tę cechę) lub poligenicznego (cecha jest pod kontrolą wielu genów). Analiza ta umożliwia także określenie rodzajów współdziałań między allelami tego samego genu i między genami, a przede wszystkim pozwala na ustalenie udziału czynników pozagenetycznych w fenotypowej ekspresji cechy.

- ♦ Wykorzystanie technik molekularnej analizy DNA i metod cytogenetyki do identyfikacji genu (genów), warunkujących cechy ważne ekonomicznie (produkcyjne, zdrowotność), ustalenia ich fizycznej lokalizacji oraz sprzężeń z innymi *loci*.

Oba podejścia łączy konieczność wsparcia metodami statystycznymi. Tradycyjne metody są i zapewne będą stosowane w ocenie wartości genetycznej, ale sądzę, że w przyszłości ich zasadniczą rolę będzie wspomaganie metod nowoczesnej, bezpośredniej oceny genotypu zwierzęcia, warunkującego cechę lub cechy interesujące hodowcę.

Wiedza na temat genów „ważnych” lub sprzężonych z nimi markerów genetycznych jest już podstawą nowoczesnych programów hodowlanych, wykorzystujących jako kryterium selekcji genotyp zwierzęcia w danym *locus*. Wiedza ta jest coraz większa, choć wciąż jednak niewystarczająca do zastąpienia metod tradycyjnych nowoczesnymi.

Przez wiele lat poszukiwanie *loci* cech ilościowych (QTLs) bazowało na podstawowym schemacie, opartym na rodzinach referencyjnych, najlepiej trzypokoleniowych. Projekty obejmujące „skanowanie genomu”, realizowane we współpracy często międzynarodowej, są ogromnie kosztowne i pracochłonne

i, niestety, nie zawsze kończą się uzyskaniem jednoznacznych wyników – identyfikacją genu (genów) warunkującego daną cechę, czy grupę cech. Wynikiem wieloletnich badań było niekiedy tylko określenie regionu chromosomowego, sprzężonego z cechą ekonomicznie ważną lub wykazanie sprzężeń między *loci* cechy ważnej a wieloma *loci* markerowymi. Takie wyniki oczywiście nie pozwalają na ich zastosowanie w bezpośredniej ocenie wartości genetycznej zwierząt. Dlatego opracowano alternatywne podejście, polegające na wytypowaniu genu kandydującego do roli QTL (genu głównego), identyfikacji jego polimorfizmu i analizie wpływu polimorficznych wariantów tego genu na wartość fenotypową cechy. Prześledzenie rozkładu genotypów w grupach zwierząt o przeciwstawnych wartościach fenotypowych cechy oraz obliczenie frekwencji określonych alleli w tych grupach, powinno zweryfikować postawioną hipotezę o roli wytypowanego genu jako genu głównego.

Poszukiwanie QTLs (Quantitative Trait Loci)

Badania genetycznego tła cech użytkowych zwierząt koncentrują się przede wszystkim na poszukiwaniu genów warunkujących: mięsność (przede wszystkim skład tuszy i jakość mięsa), mleczność (zawartość podstawowych składników mleka, wartość technologiczna mleka), cechy reprodukcyjne, a także zdrowotność (choroby i wady dziedziczne, odporność na infekcje).

Badania te prowadzone są na dużym materiale, odpowiednio dobranym (pokolenie rodzicielskie jak najbardziej różnicowane genetycznie, co najmniej jedno, najlepiej dwa pokolenia potomne), by uzyskać możliwie pełną segregację alleli i fenotypów. Gromadzone wyniki badań molekularnych i danych dotyczących użyteczności zwierząt są poddawane analizie statystycznej, z zastosowaniem specjalistycznych programów komputerowych, które wykazują sprzężenie i odległość genetyczną (w centiMorganach) między badanymi *loci* markerowymi a *loci* cech użytkowych (QTLs). Mimo wysiłku wielu badaczy, realizujących projekty, wciąż niezadowolająca jest nasza wiedza o genetycznym uwarunkowaniu cech produkcyjnych zwierząt hodowlanych.

Według danych z internetowych baz map genomowych, do sierpnia 2007 r. liczba *loci* zmapowanych u poszczególnych gatunków zwierząt była następująca: bydło – 4122 *loci* (w tym 1507 genów), świnia – 4081 *loci* (1588 genów), koń – 2593 *loci* (1036 genów), owca – 2030 *loci* (543 geny), koza – 622 *loci* (263 geny).

Niestety wciąż mało jest tak spektakularnych osiągnięć, jak na przykład identyfikacja mutacji w genie miostatyny, odpowiedzialnej za hipertrofię mięśniową u bydła belgijskiego błękitnego (i kilku innych ras bydła mięsnego – asturiana, maine-anjou, piemontese i gasconne). Zmutowany gen koduje nieaktywne białko, czego skutkiem jest nadmierny wzrost mięśni szkieletowych, wywołany zwiększoną liczbą włókien mięśniowych [9].

Od wielu lat prowadzone są poszukiwania genu kontrolującego hipertrofię mięśniową u niektórych ras owiec, objawiającą się fenotypem callipyge oraz carwell. Wiadomo już, że gen CLPG (callipyge) znajduje się w chromosomie 18. Mutacja warunkująca fenotyp callipyge powoduje wzrost szybko kurczliwych włókien mięśniowych i daje efekt fenotypowy u jagniąt w wieku około 4 tygodni życia. Hipertrofia jest ograniczona do mięśni zadu, ponadto obserwuje się zmniejszenie otluszczenia i zwartą budowę szkieletu. Sposób dziedzicze-

nia tej mutacji jest inny niż mendlowski, ponieważ gen znajduje się w piętnowanym (piętno gametyczne, inaczej rodzicielskie) regionie terminalnym chromosomu 18. Hipertrofia ujawnia się u owiec heterozygotycznych, które odziedziczyły allel zmutowany od ojca. Badacze amerykańscy [23] zidentyfikowali we wspomnianym regionie mutację – podstawienie zasad A → G, następnie potwierdzili w badaniach na owcach różnych ras bez hipertrofii i owcach z hipertrofią callipyge, że mutacja ta występuje tylko u owiec charakteryzujących się fenotypem callipyge. To dało podstawę do opracowania testu molekularnej identyfikacji tej mutacji, wykorzystującego technikę PCR-RFLP.

Hipertrofia mięśniowa u owiec rasy texel i australijskich poll dorset wykazuje inny fenotyp, nazwany carwell. Badania naukowców szkockich [26] wskazują na region, w którym należy szukać genu odpowiedzialnego za tę hipertrofię – na chromosomie 2 w pobliżu genu miostatyny.

U bydła, oprócz genu miostatyny, badanych jest także kilka innych genów (tab. 1) pod kątem ich wpływu na cechy mięsne – tempo wzrostu i skład tuszy [3]. Spośród cech użyteczności mięsnej, których uwarunkowanie genetyczne jest szczególnym obiektem zainteresowania badaczy, najważniejsze to: masa ciała przy urodzeniu, masa ciała w wieku 12 miesięcy, masa tuszy ciepłej, powierzchnia oka polędwicy, grubość tłuszczu, tłuszcz podskórny, % tłuszczu ekstrahowanego z mięśnia *longissimus*, kruchość mięsa, marmurkowość mięsa. Wyniki badań bydła ras hereford, piemontese, belgijskiej błękitnej i mieszańców angus x brahman wskazują na lokalizację QTLs dla tempa wzrostu i składu tuszy w kilkunastu chromosomach [3].

Ostatnie lata przyniosły niezwykle szybki rozwój badań z zakresu genomiki strukturalnej, a przede wszystkim genomiki funkcjonalnej. Rozpatrywany jest nie tylko wpływ polimorfizmu w regionach regulatorowych genów na fenotypową ekspresję cech, ale także wpływ polimorfizmu w regionie pro-

Tabela 1
Lokalizacja wybranych genów związanych z tempem wzrostu i składem tuszy bydła

Chromosom	Gen	Kodowane białko
1	<i>PIT1</i>	przysadkowy czynnik wzrostu 1
2	<i>MSTN</i>	miostatyna
3	<i>LEPR</i>	receptor leptyny
4	<i>LEP</i> <i>CLNC1</i> <i>CALD1</i>	leptyna kanał chlorkowy 1 kaldesmon 1
5	<i>MYF5</i> , <i>MYF6</i> <i>IGF1</i>	miogeniczny czynnik 5 i 6 insulinopodobny czynnik wzrostu 1
10	<i>CAPN3</i>	kalpaina 3
15	<i>MYOD1</i>	miogeniczny czynnik 3
16	<i>MYOG</i>	miogenina (miogeniczny czynnik 4)
18	<i>RYR1</i>	receptor rianodyny 1
19	<i>GH</i>	hormon wzrostu
20	<i>GHR</i>	receptor hormonu wzrostu
21	<i>PREF1</i>	czynnik pre-adipocytów 1

motora, czy polimorfizmu genów kodujących czynniki transkrypcyjne. U świń badania genetycznych uwarunkowań cech otluszczenia zaowocowały wskazaniem genów leptyny (chromosom 18), receptora leptyny (6), białek transportujących kwasy tłuszczowe mięśnia sercowego (gen *H-FABP*, chromosom 6) i w adipocytach, (gen *A-FABP*, chromosom 4), białka związanego z różnicowaniem adipocytów (*ADFP*, chromosom 1), a także genów kodujących czynniki transkrypcyjne zaangażowane w adipogenezę (*C/EBPα*, *C/EBPβ*, *C/EBPγ*, *CREB*), jako kandydujących do roli QTLs [24].

Testy komercyjne – identyfikacja genotypu w *loci* genów ważnych

Osiągnięcia genetyki molekularnej, nowoczesne i szybkie metody identyfikacji genotypu, możliwość wykorzystania do izolacji DNA różnych tkanek pobieranych przyżyciowo (krew, cebulki włosowe, nasienie, a u ptaków – pióra), umożliwiają opracowanie testów, które mogą być stosowane w stadach hodowlanych i komercyjnych [4]. W odniesieniu do cech, których uwarunkowanie genetyczne zostało dokładnie poznane i scharakteryzowane, test identyfikuje wiarygodnie genotyp w *locus* kontrolującym daną cechę. W tabeli 2 przedstawiono przykłady dostępnych testów dla bydła, świń, owiec i kóz.

Tabela 2
Przykłady testów genetycznych stosowanych w hodowli zwierząt (bezpośrednia identyfikacja mutacji przyczynowej w danym genie) [4]

Kategoria cech	Gen/białko	Gatunek/użytkowanie
Fenotypowe	<i>CKIT</i>	świnia
	<i>MC1R/MSHR</i>	świnia, bydło mleczne i mięsne
	<i>MGF</i>	bydło mięsne
	<i>E (Extension)</i>	bydło mleczne i mięsne
Jakość mleka	<i>CSN3</i>	bydło mleczne
	<i>LBG</i>	bydło mleczne
	<i>CSN1S1</i>	bydło mleczne, koza
Jakość mięsa	<i>RYR1</i>	świnia
	<i>RN/PRKAG3</i>	świnia
Spożycie paszy	<i>MC4R</i>	świnia
Reprodukcja	<i>BMPR-IB (FecB – Booroola)</i>	owca
	<i>FecXⁱ (Inverdale)</i>	owca
	<i>FecX^H (Hanna)</i>	owca
Wzrost i skład tuszy	<i>MC4R</i>	świnia
	<i>IGF-2</i>	świnia
	<i>MSTN</i>	bydło mięsne
	<i>CLPG</i>	owca
Wydajność i skład mleka	<i>DGAT1</i>	bydło mleczne
	<i>GHR</i>	bydło mleczne
	<i>CSN3</i>	bydło mleczne

Niektóre testy DNA, opracowane dla bydła, identyfikują genotyp w kilku *loci* lub kilka mutacji w tym samym genie. Przykładem może być test dla bydła mięsnego w USA, obejmujący trzy markery – jedna mutacja w genie kalpastatyny i dwie mutacje w genie kalpajny μ (Igenity *TenderGene*TM oraz GeneSTAR[®] *Tenderness*), który jest zalecany w doskonaleniu kruchości mięsa [25]. Oba białka – kalpajna i kalpastatyna odgrywają ważną rolę w proteolizie białek mięśniowych *post mortem* i wpływają na cechy jakości mięsa [19].

U koni szczególnie ważne jest umaszczenie, dlatego opracowano testy DNA umożliwiające identyfikację genotypu w

loci kontrolujących produkcję melanin, wielkość melanocytów i rozkład melanosomów. Dostępne testy identyfikacji genotypu odnoszą się do umaszczeń: agouti (kasztan/kary), maść rozjaśniona – kremowa (cream), maść rozjaśniona – perłowa (pearl), maść rozjaśniona – srebrzysta, biały – overo (w tym przypadku chodzi o eliminację z hodowli zaburzenia, jakim jest syndrom białych źrebiąt), maść sabino, tobiano oraz czynnik czerwonego umaszczenia – w *locus* Extension (<http://www.vgl.ucdavis.edu/service/horse/index.html>).

Markery genetyczne cech użytkowych

Przeprowadzana w ramach projektów, ukierunkowanych na poszukiwanie QTLs, analiza sprzężeń między *loci* markerowymi (pokrywającymi możliwie jak największą część genomu danego gatunku) a *loci* cech ważnych jest pierwszym krokiem do identyfikacji tych genów. Ten etap projektu na ogół kończy się sukcesem, zostają wykryte sprzężenia między QTL a *loci* markerowymi, którymi mogą być sekwencje kodujące (polimorficzne geny) lub niekodujące (mikrosatelity). Obecnie dostępne są testy genetyczne identyfikujące genotyp w *loci* markerów klasy I (sekwencje kodujące), przykłady takich testów przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3
Przykłady testów genetycznych stosowanych w hodowli zwierząt (marker sprzężony z *locus* genu ważnego) [4]

Kategoria cech	Marker (gen)	Gatunek/użytkowanie
Jakość mięsa	<i>A-FABP4</i>	świnia
	<i>H-FABP/FABP3</i>	świnia
	<i>CAST</i>	świnia, bydło mięsne
	<i>THYR</i>	bydło mięsne
	<i>LEP</i>	bydło mięsne
Reprodukcja	<i>ESR</i>	świnia
	<i>PRLR</i>	świnia
	<i>RBP4</i>	świnia
Wzrost i skład tuszy	<i>CAST</i>	świnia
	<i>Carwell</i>	owca
Wydajność i skład mleka	<i>PRL</i>	bydło mleczne

Znacznie trudniejszy jest kolejny etap – identyfikacja genu warunkującego badaną cechę produkcyjną. Na przykład gen, którego zmutowana forma warunkuje podatność świń na stres i związaną z tym miopatię stresową (niekorzystne zmiany fizykochemiczne – zmniejszona wartość technologiczna mięsa, tzw. mięso PSE), zidentyfikowano dopiero po 20 latach poszukiwań.

W analizie genetycznego tła cech użytkowych zwierząt wykorzystywane są także markery klasy II, do których należą sekwencje mikrosatelitarne. Genotyp w *locus* markera może być wykorzystany jako kryterium selekcji pośredniej (MAS). Znajomość sprzężeń między markerami a cechami produkcyjnymi jest szczególnie ważna w przypadku cech mięsnych, których nie można zmierzyć przyżyciowo (np. zawartość mięsa w tuszy) lub cech występujących tylko u jednej płci (mleczność samic). Można selekcjonować zwierzęta obu płci, lub bez konieczności uboju, na podstawie genotypu w *loci* markerowych. Niestety niejednokrotnie wyniki nawet bardzo dobrze zaprojektowanych badań, ukierunkowanych na identyfi-

kację QTLs, wskazując kilka regionów chromosomowych, w których należy szukać genów ważnych. Wyniki badań 15 cech użyteczności mięsnej i genotypu w 137 loci markerowych u blisko 500 tuczników (mieszaniec wielka biała x meishan) z pokolenia F₂ wskazały na obecność OTLs w wielu chromosomach. Na przykład genu kontrolującego masę szynki należy szukać w chromosomie 1, 5, X (wysoko istotne sprzężenia), a także prawdopodobnie w chromosomie 7 i 8 [15].

Trudności związane z realizacją badań prowadzonych na kilkupokoleniowych rodzinach referencyjnych, wysokie koszty badań, często brak jednoznacznych wyników zmusiły badaczy do opracowania alternatywnej metody poszukiwania genów cech ważnych, metody mniej kosztownej i pracochłonnej, chociaż pewnie równie nie zapewniającej sukcesu.

Analiza polimorfizmu genu wytypowanego na gen główny i jego wpływu na wartość fenotypową cechy

Alternatywne podejście do projektów „skanowania genomu” i poszukiwania genów cech ilościowych (QTLs) wymaga ścisłej współpracy genetyków, fizjologów, hodowców oraz dużej wiedzy, przede wszystkim znajomości określonych szlaków metabolicznych, mechanizmów ich funkcjonowania i regulacji. Wiedza ta jest niezbędna do wytypowania genów, których produkt (białko) wpływa na cechę ilościową (produkcyjną, zdrowotną). Polimorfizm takiego genu, warunkując zróżnicowaną strukturę kodowanego białka, wpływa na jego właściwości funkcjonalne, a to z kolei docelowo wpływa na cechę. Na przykład, badając genetyczne uwarunkowanie tempa wzrostu można wytypować, jako geny kandydujące, geny czynników wzrostu i receptorów czynników wzrostu, a cechy reprodukcyjne mogą zależeć od genów hormonów związanych z rozrodem i genów ich receptorów.

Przykład poniższy, dotyczy wprowadzenia odporności na infekcje, ale sposób postępowania zmierzający do wykrycia genu o dużym wpływie na odporność/podatność jest niemal identyczny z poszukiwaniem genu o dużym wpływie na cechę użytkową. W Australii i Nowej Zelandii realizowano wiele projektów zmierzających do wykrycia genu warunkującego odporność owiec na nicienie przewodu pokarmowego. W części tych projektów celowo prowadzono selekcję rozbieżną, uzyskując dwie linie: 1 – linia odporna na infekcje, 2 – linia podatna na infekcje. W jednym z takich projektów [2], po przekrzyżowaniu tych linii z pokolenia F₁ wybrano tryki i przekrzyżowano je z owcami outbredowymi, w pokoleniu F₂ otrzymano 1029 jagniąt. Jagnięta te zainfekowano doustnie larwami inwazyjnymi (L3) nicienia *Trichostrongylus colubriformis*. U wszystkich zwierząt oznaczano liczbę jaj nicieni w kale (jest to powszechnie stosowany wskaźnik odporności na nicienie przewodu pokarmowego) oraz zidentyfikowano genotyp w 133 loci markerowych. Analiza sprzężeń loci markerowych z QTL odporności wskazała na obecność genu warunkującego odporność na nicienie w chromosomie 3, w re-

gionie, w którym znajduje się gen interferonu gamma [2]. Również u bydła (rasa angus), także selekcionowanego rozbieżnie na podatność i odporność na nicienie, stwierdzono związek odporności na nicienie (*Ostertagia ostertagi* i *Cooperia oncophora*) z polimorfizmem w locus interferonu gamma [8]. Znając dobrze mechanizmy odpowiedzi immunologicznej na infekcje i wiedząc, że aktywowane limfocyty T wysyłają do limfocytów B cytokiny, które pobudzają limfocyty B do proliferacji i produkcji przeciwciał przeciwko rozpoznawanemu patogenowi, można wybrać jedną z głównych cytokin – interferon gamma. Zastosowanie alternatywnej metody – wytypowanie genu interferonu gamma, jako genu ważnego dla odporności na nicienie, a następnie przeanalizowanie frekwencji jego alleli u zwierząt o wysokiej i niskiej liczbie jaj nicieni w kale, byłoby znacznie mniej kosztowne i pracochłonne, a być może wskazałoby ten gen jako QTL odporności przeżuwaczy na parazytemie przewodu pokarmowego.

Analiza genetyczna uwarunkowań zdrowotności zwierząt

Powszechnie wiadomo, że wyniki ekonomiczne hodowli zależą nie tylko od produktywności zwierząt, ale także od stanu ich zdrowia. Spośród chorób występujących u zwierząt, dużą grupę stanowią choroby o podłożu genetycznym. U wszystkich gatunków zwierząt gospodarskich opisywane są choroby dziedziczne, które pojawiają się u preferowanych w hodowli osobników o wysokiej wartości hodowlanej, a tym samym łatwo rozprzestrzeniane w populacji. Identyfikacja mutacji przyczynowych tych chorób, opracowanie testów diagnostycznych i strategii hodowlanej ma zatem ogromne znaczenie dla doskonalenia zdrowotności zwierząt. Choroby i wady genetyczne mogą być następstwem zmian liczby lub budowy chromosomów, ale na ogół podłożem tych zaburzeń są mutacje genowe, prowadzące najczęściej do utraty funkcjonalnej aktywności białka kodowanego przez dany gen. Rozprzestrzenianiu się chorób genetycznych w określonych populacjach zwierząt sprzyja fakt, iż w większości są one warunkowane recesywnymi genami, a nosicielami mutacji są osobniki heterozygotyczne o prawidłowym fenotypie. Fenotyp heterozygotycznych nosicieli mutacji nie odbiega od typowego dla zwierząt zdrowych, które w swoim genotypie mają dwa prawidłowe allele.

Liczba chorób zwierząt gospodarskich, których uwarunkowanie genetyczne zostało już dokładnie poznane, wynosi około 120 (według bazy OMIA – Online Mendelian Inheritance in Animals) – tabela 4.

Poszukiwanie mutacji przyczynowych dziedzicznych chorób u zwierząt bazuje w dużej mierze na wiedzy o uwarunkowaniu analogicznych chorób u człowieka, wykorzystywane są mapy porównawcze między genomem człowieka a genomem danego gatunku zwierząt, wskazujące homologie regionów chromosomowych zawierających zidentyfikowany już u człowieka gen.

Tabela 4
Choroby monogenowe zwierząt (wg bazy Online Mendelian Inheritance in Animals, stan na sierpień 2007 r.)

Wyszczególnienie	Bydło	Świnia	Koń	Owca	Koza	Pies	Kura	Inne zwierzęta	Razem
Liczba fenotypów	369	214	189	187	70	481	177	853	2540
Podłoże fenotypów scharakteryzowane na poziomie molekularnym	36	13	13	15	7	58	18	45	205
Potencjalny model dla chorób człowieka	121	70	95	67	25	220	36	374	1008
Potencjalny model dla chorób innych zwierząt	228	149	133	131	59	279	69	687	1735

Choroba	Rasa bydła	Białko kodowane
Alfa-mannozydoza	angus, galloway, murray grey	α -mannozydaza
Beta-mannozydoza	salers	β -mannozydaza
BLAD	holsztyńsko-fryzyjska	podjednostka CD-18 β_2 -integryny
Brak krzepliwości krwi	holsztyńsko-fryzyjska	czynnik IX krzepnięcia krwi
Cytrulinemia	holsztyńsko-fryzyjska	syntetaza argininobursztynianowa
DUMPS	holsztyńsko-fryzyjska	syntaza urydynomonofosforanowa
Gangliozydoza	holsztyńsko-fryzyjska	kwaśna β -galaktozydaza
Glikogenoza (choroba Pompego)	brahman, shorthorn, droughtmaster	kwaśna maltaza (α -1,4-glukozydaza)
Karlowość chondrodysplastyczna	bydło japońskie brązowe	białko uczestniczące w procesie kostnienia
Mocz o zapachu syropu klonowego	hereford	kompleks dehydrogenazy α -ketokwasów
Protoporfiria	limousine	ferrochelataza
Zespół Chediaka-Higashiego	wagyu, hereford, brangus	lizosomowy wewnątrzkomórkowy regulator transportu
Zespół zniekształceń kręgosłupa (CVM)	holsztyńsko-fryzyjska	gen <i>SLC35A3</i>

Tabela 5
Dostępne testy DNA – nosicielstwo mutacji przyczynowych chorób i wad bydła

Opisano już i scharakteryzowano na poziomie molekularnym wiele chorób i wad dziedzicznych, a opracowane testy identyfikacji nosicielstwa zmutowanych, niekorzystnych alleli są oferowane przez laboratoria komercyjne (tab. 5).

Zarówno u ludzi, jak i zwierząt opisano wiele zaburzeń genetycznych, spowodowanych niedoborem bądź brakiem któregoś z wielu enzymów katalizujących procesy metaboliczne w lizosomach. Należą do nich alfa-mannozydoza, beta-mannozydoza, gangliozydoza i glikogenoza. Niedobór enzymu powoduje gromadzenie (spichrzanie) w lizosomach niezdegradowanych metabolitów, takich jak: glikoproteiny, glikolipidy, glikogen. Objawy kliniczne tych schorzeń są bardzo poważne, często kończą się śmiercią zwierzęcia. W krajach, w których stwierdzono występowanie tych chorób opracowano i wdrożono programy eliminacji tych mutacji z hodowli bydła [10, 13].

Choroby – BLAD, cytrulinemia i DUMPS, zidentyfikowane u bydła holsztyńsko-fryzyjskiego, nie są już zagrożeniem dla polskiej hodowli bydła [12]. Natomiast od paru lat w polskiej populacji bydła czarno-białego notowane są przypadki zespołu zniekształceń kręgosłupa – CVM (Complex Vertebral Malformation). CVM został opisany po raz pierwszy u bydła duńskiego w 2001 roku [17]. Zidentyfikowano już genetyczne tło tego schorzenia – mutację w genie *SLC35A3*, powodującą w układzie homozygotycznym martwe urodzenia płodów. Niestety w polskiej populacji bydła czarno-białego mutacja ta występuje z dużą częstością [22]. Test DNA identyfikacji nosicielstwa zmutowanego allelu został opracowany i opatentowany przez badaczy duńskich. Licencja została zakupiona przez Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie i buhaje należące do Stacji Hodowli i Unasienniania Zwierząt w Bydgoszczy są badane (wystarczy jedna dawka nasienia). W katalogu buhajów

należących do tej Stacji jest już zamieszczana informacja o genotypie w *locus SLC35A3*.

U innych gatunków zwierząt (świnie, owce, konie) też opisano dziedziczne choroby i wady, opracowano testy identyfikujące nosicieli mutacji przyczynowych (tab. 6).

Metody genetyki molekularnej stosowane są także w diagnostyce chorób infekcyjnych. Na przykład u bydła i owiec, wczesna identyfikacja infekcji *Mycobacterium avium* (subsp. *paratuberculosis*), wywołująca paratuberkulozę (choroba Johne'sa), jest możliwa dzięki testowi DNA [6]. Inna, znana od ponad pół wieku, choroba u owiec zwana OPP (ovine progressive pneumonia) jest wywoływana przez wirus z rodziny *Retroviridae* – maedi-visna. Objawy kliniczne tej infekcji to spadek masy ciała, kaszel, trudności w oddychaniu, spadek mleczności, czasami paraliż tylnych kończyn. Opracowany test molekularnej diagnostyki infekcji maedi-visna bazuje na identyfikacji obecności fragmentu regionu „pol” wirusa patogennego [20].

Tabela 6
Dostępne testy DNA – nosicielstwo mutacji przyczynowych chorób i wad owiec, świń i koni

Choroba (źródło)	Gen	Białko kodowane
Owce		
Dziedziczna chondrodysplazja (zespół pajęczy – SLS) [1]	<i>FGFR3</i>	receptor czynnika wzrostu fibroblastów 3
Porfirie [18]	<i>UROD</i>	dekarboksylaza uroporfirynogenu
Trzęsawka (scrapie) [15]	<i>PrP^C</i>	białko prionowe
Świnie		
Gorączka złośliwa (syndrom stresowy – PSS) [7]	<i>RYS1</i>	receptor rianodiny
Konie		
Okresowy paraliż u koni Quarter (HyPP – Hyperkalemic periodic paralysis) [21]	<i>SCN4A</i>	transbłonowa domena IVS ₃ podjednostki α genu kanału sodowego
Pęcherzowe oddzielanie się naskórka [16]	<i>LAMC2</i>	podjednostka γ_2 zewnątrzkomórkowego adhezyjnego ligandu lamininy
Niedobór enzymu – choroba spichrzania lizosomalnego u koni Quarter [27]	<i>GSD IV</i>	enzym "rozgałęziający" (tworzy wiązania α -1,6-glikozydowe podczas syntezy glikogenu)

U świń odporność/podatność na chorobę obrzękową, wywoływaną przez szczep F18 *Escherichia coli*, jest związana z polimorfizmem genu alfa (1,2) fukozylotransferazy – *FUT1* [14]. Opracowany molekularny test, oparty na technice PCR-RFLP, umożliwia eliminację nosicieli niekorzystnej mutacji. Takich przykładów wczesnej diagnostyki infekcji metodami molekularnymi jest już w medycynie bardzo dużo.

Technologia mikromacierzy – kompleksowa identyfikacja genotypów w wielu loci

Technologia mikromacierzy jest nowoczesną metodą analizy kwasów nukleinowych. Wykorzystuje ona zdolność pojedynczych nici DNA do łączenia się ze sobą (hybrydyzacji), jeśli zasady w tych niciach DNA są komplementarne do siebie. Mikromacierz DNA (microchip DNA) jest to niewielka płytka (długość boków wynosi kilka centymetrów) z przymocowanymi do niej zestawami jednoniciowych cząsteczek DNA – sond. Zestaw tych sond zależy od przeznaczenia mikromacierzy, mogą to być na przykład fragmenty genów ulegających ekspresji tylko w określonej tkance, ale także w całym organizmie. Są dwa zasadnicze rodzaje mikromacierzy – do badania ekspresji genów i do identyfikacji genotypu osobnika w wielu loci (wykrywanie nosicielstwa mutacji).

W Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim opracowano mikromacierz MilkProtChip, która umożliwia kompleksowe „genotypowanie” zwierząt w loci związanych z biosyntezą białek mleka [11]. Zawiera ona kilkadziesiąt sond dla polimorfizmów typu SNP (polimorfizm podstawień jednonukleotydowych), zidentyfikowanych w 39 loci, determinujących białka mleka i czynniki transkrypcyjne, ale także białka, których warianty (spowodowane mutacją w genie) powodują choroby genetyczne (BLAD, DUMPS). Wykorzystanie technologii mikromacierzy w hodowli jest na razie ograniczone wysokim kosztem urządzeń i samych mikromacierzy DNA. Należy jednak przypuszczać, że technologia ta będzie mieć coraz większe zastosowanie w doskonaleniu zwierząt.

Literatura: 1. Beever J.E., Smit M.A., Meyers S.N., Hadfield T.S., Bottema C., Albrechtsen J., Cockett N.E., 2006 – Anim. Genet. 37, 66-71. 2. Beh K.J., Hulme D.J., Callaghan M.J., Leish Z., Lenane

I., Windon R.G., Maddox J.F., 2002 – Anim. Genet. 33, 97-106. 2002. 3. Casas E., Keele J.W., Shackelford S.S., Koohmaraie M., Stone R.T., 2003 – Anim. Genet. 35, 2-6. 4. Dekkers J. C.M., 2004 – J. Anim. Sci. 82, 313-328. 5. Dodds K., McEwan J., Davis G., 2007 – Small Rum. Res. 70, 32-41. 6. Ellingson J.L.E., Bolin C.A., Stabel J.R., 1998 – Mol. Cell. Probes 12, 133-142. 7. Fujii J., Otsu K., Zorzato F., De Leon S., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien P.J., MacLennan D.H., 1991 – Science 253, 448-451. 8. Gasbarre L.C., Sonstegard T.S., Vantassell C.P., Padilha T., 2002 – Proceed. 7th WCGALP, Montpellier, France, session 13. 9. Grobet L., Poncelet D., Royo L.R., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Ménessier F., Zanotti M., Dunner S., Georges M., 1998 – Mamm. Genome 9, 1432-1777. 10. Healy P.J., Malmo J., 1998 – Aust. Vet. J. 76(10), 699-700. 11. Kamiński S., Ahman A., Ruś A., Wójcik E., Malewski T., 2005 – J. Appl. Genet. 46(1), 45-58. 12. Kamiński S., Grzybowski G., Prusak A., Ruś A., 2005 – J. Appl. Genet. 46(4), 395-397. 13. Lipprandt J.R., Chen H., Horvath J.E., Qiao X.T., Jones M.Z., 1999 – Mamm. Genome 10, 1137-1141. 14. Meijerink E., Neuenschwander S., Fries R., Dinter A., Bertschinger H.U., Stranzinger G., Vogeli P., 2000 – Immunogenet. 52, 129-136. 15. Milan D., Bidanel J.P., Iannuccelli N., Riquet J., Amigues Y., Gruand J., Le Roy P., Renard Ch., Chevalet C., 2002 – Genet. Sel. Evol. 34, 705-728. 16. Milenkovic D., Chaffaux S., Taourit S., Guérin G., 2003 – Genet. Sel. Evol. 35, 249-256. 17. Nagahata H., Oota H., Nitani A., Oikawa S., Higuchi H., Nakade T., Kurosawa T., Morita M., Ogawa H.J., 2002 – Vet. Med. Sci. 64, 1107-1112. 18. Nezamzadeh R., Seubert A., Pohlenz J., Brenig B., 2005 – Anim. Genet. 36, 297-302. 19. Page B.T., Casas E., Quaas R.L., Thallman R.M., Wheeler T.L., Shcakelford S.D., Koohmaraie M., White S.N., Bennett G.L., Keele J.W., Dikeman M.E., Smith T.P.L., 2004 – J. Anim. Sci. 82, 3474-3482. 20. Prezioso, S., Taccini E., Rossi G., Renzoni G., Braca G., 2003 – Eur. J. Histochem. 47, 373-378. 21. Rudolf J.A., Spier S.J., Byrns G., Hoffman E.P., 1992 – Anim. Genet. 23, 241-250. 22. Ruś A., Kamiński S., 2007 – J. Appl. Genet. 48(3), 247-252. 23. Smit M., Segers K., Carrascosa L.G., Shay T., Baraldi F., Gyapay G., Snowden G., Georges M., Cockett N., Charlier C., 2003 – Genetics 163, 453-456. 24. Świwiński M., Chmurzyńska A., Maćkowski M., 2003 – Anim. Sci. Pap. Rep. 21(2), 73-86. 25. Van Eenennaam A., 2006 – <http://animalscience.ucdavis.edu/animalbiotech> 26. Walling G.A., Visscher P.M., Wilson A.D., McTeir B.L., Simm G., Bishop S.C., 2004 – J. Anim. Sci. 82, 2234-2245. 27. Ward T.L., Valberg S.J., Adelson D.L., Abby C.A. Mickelson J.R., 2004 – Mamm. Genome 15, 570-577.

Ojcowie chrzestni zootechniki polskiej

Wacław Łuczak, Krystyn Chudoba

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

W 85. rocznicę założenia Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego warto wspomnieć osoby, które szczególnie przyczyniły się do wprowadzenia i rozpowszechnienia terminu „zootechnika”. Słowo to dobrze charakteryzuje praktyczną i naukową działalność człowieka związaną ze zwierzętami domowymi. Pierwszy człon nazwy nigdy nie budził wątpliwości, gdyż z greckiego „zoon” oznacza zwierzę, natomiast człon drugi „tehne” – umiejętność, co czasami niestudnie kojarzy się bardziej z działalnością praktyczną niż z nauką.

Jak podaje prof. Malsburg, zootechnikę jako oddzielną naukę po raz pierwszy wyodrębnił Francuz Andre Amper w pracy pt. „Essai sur la philosophie des science” (Paryż, 1833 r.). We Francji i w krajach będących pod silnym wpływem kultury francuskiej określenie to przyjęło się dla całości zagadnień naukowych i praktycznych dotyczących produkcji zwierzęcej. Natomiast w Niemczech terminu „zootechnika” używano tylko przejściowo. Zwolennikiem takiego określenia był prof. Emil Pott, kierownik Instytutu Zootechnicznego na Wydziale Rolniczym Politechniki Monachijskiej w latach 1904-1913 [6]. Termin ten przejął od profesorów zootechniki niemieckiej – Kurta Lehmana i Hermana Settegasta. Określenie „zootechnika” nie utrwaliło się jednak w niemieckim i anglosaskim obszarze językowym.

W Polsce zootechnika wyodrębniła się z nauk rolniczych po roku 1860. Dalsza specjalizacja miała miejsce w roku 1894, kiedy to prof. Leopold Adametz podzielił hodowlę zwierząt na ogólną i szczegółową. Publikacje zootechniczne z tego okresu miały charakter podręcznikowy, a na prace eksperymentalne przyszło poczekać do następnego wieku. Pełny