Można więc uznać, że zapobieganie rozwojowi grzybów jest najefektywniejszym sposobem zmniejszania niebezpieczeństwa, wynikającego za skarmiania pasz skażonych mikotoksynami. Ponadto szybkie wprowadzenie przepisów celnych, dotyczących jakości ochrony mikologicznej importowanych zbóż oraz komponentów paszowych powinno przyczynić się do zwiększenia zdrowotności zwierząt w kraju, a tym samym bezpieczeństwa żywności pochodzenia zwierzęcego.

35 pozycji literatury do wglądu u Autora lub w Redakcji

Wykorzystanie genetyki molekularnej w hodowli i produkcji drobiu

Referat plenarny na LXV Zjazd Naukowy PTZ w Olsztynie

Marek Bednarczyk

Oddział Badawczy Drobiarstwa w Zakrzewie, IZ w Krakowie

Charakterystyka genomu kury. Materiał genetyczny kury (jak się przypuszcza od 50 000 do 80 000 genów) rozmieszczony jest na 39 parach chromosomów, w tym ośmiu dużych – zwanych makrochromosomami oraz na 30 małych, cytologicznie niezróżnicowanych chromosomach – zwanych mikrochromosomami. Płeć determinowana jest przez chromosomy oznaczone jako W i Z, przy czym płeć żeńska jest u ptaków heterogametyczna (ZW). Oszacowano [8], że makrochromosomy oraz chromosomy płciowe zawierają około 82% genomu kury (tab. 1).

Kura (*Gallus gallus domesticus*) stanowi w różnorodnych badaniach, w tym dotyczących poznania genomu organizmów żywych, doskonały z wielu względów gatunek modelowy. W badaniach molekularnych zaletą jest mały rozmiar genomu kury (około $1{,}2 \times 10^9$ pz), stosunkowo łatwa możliwość izolacji dużej ilości DNA (z jądrzastych erytrocytów) oraz duże zróżnicowanie genetyczne w obrębie gatunku. Kury charakteryzują znaczne możliwości reprodukcyjne (kilkaset sztuk potomstwa od kury w ciągu roku) oraz krótki odstęp między pokoleniami (około 7-8 miesięcy), toteż prowadzona przez człowieka od tysięcy lat selekcja doprowadziła do powstania wyspecjalizowanych, znacznie różniących się rodów hodowlanych. Z drugiej strony istnieją doświadczalne linie kur o znacznym stopniu homozygotyzmu, powstałe w wyniku krzyżowania krewniaczego, prowadzonego od stu i więcej pokoleń. Wreszcie dostępne są nadal populacje czerwonego kura dżungli, uznawanego powszechnie za protoplastę wszystkich użytkowanych obecnie kur. Taka różnorodność stanowi doskonały materiał badawczy umożliwiający poznanie organizacji i funkcjonowania informacji genetycznej, m.in. realizowany jest w ramach 5 Programu Ramowego projekt (AVIANDIV), którego celem jest [11] ocena bioróżnorodności 50 europejskich populacji kur, w tym naszej rodzimej zielononóżki kuropatwianej.

Projekt mapowania genomu kury. Jednak dopiero w ostatnich latach, w wyniku międzynarodowej współpracy powstał projekt mapowania genomu kury (Chick MaP), którego głównym celem jest:

– rozwój narzędzi i źródeł służących mapowaniu i identyfikacji genów;

– konstrukcja zintegrowanych, genetycznej i fizycznej mapy genomu kury;

– stworzenie ogólnodostępnej bazy danych;

– koordynacja działalności mapowania genomu kury.

Przydatne do konstruowania map sprzężeniowych są markery genetyczne. Markerem genetycznym jest dowolna cecha organizmu, której dziedziczenie można badać. Obecnie najczęściej stosowanymi są mikrosatelitarne sekwencje DNA, czyli krótkie, tandemowo powtarzające się dwu-, trzy- lub czteronukleotydowe motywy. Właściwości mikrosatelitów decydują o ich przydatności do mapowania genotypów, są bowiem łatwo wykrywalne, ich oznaczenie jest jednoznaczne, są wysoko polimorficzne, wreszcie bywają obficie i równomiernie rozproszone w genotypie. Zwłaszcza w drugiej połowie lat dziewięćdziesiątych, po identyfikacji wielu sekwencji mikrosatelitarnych, w połączeniu ze znakowanymi fluorescencyjnie starterami i automatycznym sekwencjonowaniem, nastąpiło w wielu laboratoriach na świecie prawdziwe polowanie na geny. Mapowanie genomu kury prowadzi się na podstawie informacji uzyskanych z trzech populacji ptaków utrzymywanych w Institute for Animal Health, Compton, w Michigen State University, East Leasing oraz w Wageningen Agricultural University, ich zebranie pozwoliło na opracowanie porównawczej mapy genomu kury. Obecnie (czerwiec, 2000) jej długość genetyczna wynosi 3800 cM i jest porównywalna z najbardziej zaawansowanymi u ssaków (tab. 2). Mapa zawiera 1889 loci w 50 grupach sprzężeniowych, w tym 350 markerów kodujących, z których 235 jest identyczna lub istotnie zbliżona do sekwencji znanych genów [6].

Przechowywanie, analiza lub interpretacja informacji, której źródłem są setki markerów jest praktycznie niemożliwa bez dostępu do nowoczesnej techniki informatycznej. Toteż w konstruowaniu map genetycznych podstawową rolę odgrywają odpowiednie programy komputerowe, np.: LINKAGE lub MAPMAKER. Ponadto w sieci INTERNET istnieje wiele baz danych gromadzących informacje o sekwencjach nukleotydowych, katalogach genów, poszczególnych chromosomach, ekspresji genów w różnych tkankach, sekwencjach kwasów

Tabela 1
Porównanie fizycznej długości makrochromosomów kury (na podstawie danych [8])

Chromosom	Zawartość DNA %	Długość fizyczna mln pz
1	20,8	250
2	15,1	181
3	11,5	138
4	9,1	109
5	5,3	64
6	3,5	42
7	3,4	41
8	2,5	30
Z	8,4	101
W	2,8	34

Tabela 2
Porównanie genetycznej długości (cM) chromosomów wybranych gatunków zwierząt domowych

Chromosom	Kura[1] samica	Kura[1] samiec	Kura[1] średnio	Świnia[2]	Krowa[3]
1	537,6	564,6	543,6	140,0	142,1
2	410,4	427,5	417,5	67,0	117,8
3	310,7	332,1	321,7	100,0	123,0
4	261,4	241,5	247,9	165,0	97,3
5	178,9	170,3	174,1	75,0	123,3
6	101,5	106,5	104,1	169,0	122,3
7	168,1	181,8	174,9	170,0	134,4
8	103,9	107,0	105,2	90,0	110,5
9				101,0	95,0
10			1 marker	40,0	100,8
11				17,0	108,7
12				107,0	103,6
13				161,0	71,5
14				135,0	85,7
15				60,0	75,4
16			68,4	91,0	92,8
17				97,0	98,6
18				20,0	73,7
19					757,0
20					69,8
21					81,9
22					106,0
23					76,0
24					53,2
25					60,6
26					59,2
27					64,1
28					52,4
29					65,0
X (W)			80,3	128,0	148,6
Y (Z)			214,3	7,4	148,6

[1]Wageningen Agricultural University, [2]PiGMaP, [3]Roslin Institute (MARC97)

nukleinowych, sekwencjach aminokwasowych białek, itd. Jedną z nich jest baza dotycząca informacji o genomie zwierząt gospodarskich – ARKDB, która dzięki przeglądarce Anubis umożliwia nie tylko studiowanie i porównywanie map chromosomowych danego gatunku, ale także pozwala na porównania pomiędzy gatunkami. ARKDB zawiera dane dotyczące map genomu: świni, owcy, krowy, konia, kury (htpp:-//www.ri.bbsrc.uk/genom_maping.html).

Teoretyczne i praktyczne efekty badań z zakresu genetyki molekularnej kury. Dokładne poznanie informacji genetycznej kury umożliwia m.in.:

- diagnozowanie i mapowanie loci cech ilościowych (QTL);
- klonowanie i sekwencjonowanie nowych genów;
- właściwą selekcję materiału hodowlanego;
- zrozumienie organizacji genomu kury, ale także innych organizmów;
- tworzenie ptaków transgenicznych.

W cyklu badań prowadzonych na Agricultural University w Wageningen [6, 7, 12] zastosowano łącznie 420 markerów mikrosatelitarnych do mapowania genów warunkujących pojedyncze cechy (dominujące białe upierzenie, karłowatość, AVL), jak również odpowiedzialnych za cechy poligeniczne. Kontrola użytkowości obejmowała ponad 18 tys. ptaków i dotyczyła następujących cech: tempa wzrostu, wykorzystania paszy, jakości mięsa, syndromu złego wchłaniania, odporności na zakażenie salmonellą. W efekcie, wstępnie wytypowano na chromosomach ponad 20 regionów zawierających prawdopodobnie geny warunkujące wymienione cechy. Po czym zlokalizowano QTL dla cechy wykorzystania paszy na chromosomie 1, w pozycji względnej 235 cM, szacując, że udział genów z tego regionu w ogólnej zmienności cechy wynosi 4%. Inne wysoko prawdopodobne lokalizacje QTL dotyczące tempa wzrostu i wykorzystania paszy dotyczyły chromosomu 2 i 4, odpowiednio w pozycji 41 i 147 cM, oraz grupy sprzężeniowej WAU26 w pozycji 16 cM.

Inne podejście metodyczne związane jest z wykorzystaniem bioróżnorodności i porównaniem polimorfizmu DNA w grupach kur [3] lub gęsi [13] skrajnie różniących się pod względem produkcji jaj. W pierwszym przypadku, posługując się metodą AFLP lub analizując polimorfizm wewnątrz powtarzającej się sekwencji Xho-Xho, występującej na chromosomie W, wyodrębniono kilka sekwencji DNA (o długości od 113 do 1859 pz), które charakteryzowała statystycznie istotna różnica w częstotliwości występowania w grupach o skrajnie różnej produkcji jaj. Stwarzają one podstawę do kontynuowania badań nad ewentualnym uniwersalnym charakterem powielonych fragmentów DNA, wskaźników kur o wybitnej produkcji jaj. Sądzę, że jest to możliwe, po oznaczeniu ich sekwencji i zaplanowaniu odpowiednich starterów, umożliwiających ich identyfikację.

Prowadzone są intensywne badania nad wyjaśnieniem molekularnego podłoża przyspieszonego wzrostu, obserwowanego wśród współczesnych brojlerów. W badaniach Ashwell i wsp. [1] wykorzystano model umożliwiający identyfikację genów warunkujących wzrost kur white plymouth rock, różniących się około 8-krotnie masą ciała w wyniku selekcji przeciwstawnej prowadzonej od 41 pokoleń. Pozwolił on na identyfikację, metodą PCR na podstawie polimorfizmu losowo wybranych fragmentów RNA (RAP-PCR), ponad 50 różnych genów wyrażających zróżnicowaną ekspresję, które następnie izolowano, klonowano i sekwencjonowano.

Potencjalny, nowy QTL wzrostu kury zmapowano [9] na chromosomie 1, wykorzystując do tego odpowiednią sekwencję występującą na chromosomie 10 myszy, której efektem fenotypowym jest 30-50% większa masa ciała u osobników homozygotycznych.

Nie tylko powyższy przykład wskazuje, że porównawcze mapy genomu, w których porównuje się lokalizację homologicznych genów u różnych gatunków są doskonałym narzędziem umożliwiającym śledzenie zmian genetycznych powstałych w ciągu milionów lat ewolucji. Używając np. starterów specyficznych dla sekwencji kodujących kury oraz jednego z poznanych genów o długości 12 kpz, przeprowadzono [10] analizę porównawczą powielonych fragmentów DNA indyka, przepiórki, perliczki, gołębia, papugi i sowy. Uzyskane wyniki wskazały, że geny odkryte u kury mogą być znakomicie użyte w analizie porównawczej znacznie mniej poznanych gatunków drobiu, a nawet dziko żyjących ptaków.

Znaczenie badań molekularnych genomu kury wykracza daleko poza zastosowanie w produkcji drobiarskiej. Jednym z podstawowych jest pytanie dotyczące natury i przyczyn zmienności materiału genetycznego. Mapowanie loci kury na chromosomach człowieka [5] wykazało znaczny poziom konserwatyzmu genetycznego pomiędzy kurą i człowiekiem, zlokalizowanego zwłaszcza w obrębie 1, 4, 9 i 12 chromosomu człowieka. Wykorzystując 13 specyficznych starterów kurzych genów, wykazano istotne podobieństwo pomiędzy sekwencjami człowieka i kury w 30-80% i 19-97%, odpowiednio w odniesieniu do genów i aminokwasów. W innych badaniach zlokalizowano, metodą hybrydyzacji *in situ*, znaczne fragmenty homologiczne na 1 chromosomie kury i 12 chromosomie człowieka, dowodząc istnienie istotnego konserwa-

tyzmu genetycznego, pomimo 300 milionów lat ewolucji, która – jak się szacuje – oddziela oba gatunki. Natomiast Burt i wsp. [4] oszacowali istnienie od 84 do 600 konserwatywnych fragmentów genomu kury, analogicznych z odpowiednimi u myszy i człowieka. Ponadto analizując mapę porównawczą genomu tych gatunków, obejmującą obszar 3900 cM, stwierdzili, że organizacja ludzkiego genomu jest bardziej zbliżona do kurzego, w porównaniu z mysim. Wyodrębnili bowiem 134 geny człowieka i kury, wykazujące istotne podobieństwo.

Osiągnięcia w identyfikacji genów odpowiedzialnych za określone cechy oraz opanowanie metod manipulacji komórkami i zarodkami kury stwarza możliwości wprowadzenia funkcjonalnego, egzogennego materiału genetycznego do komórek szlaku płciowego kury. Perspektywiczne wydają się zwłaszcza badania, w których wykorzystuje się do tego celu komórki embrionalne: komórki blastodermalne (BC) lub pierwotne komórki płciowe (PGC). Opracowana efektywna metoda iniekcji BC do zarodków biorców [2] pozwala na produkcję chimer kury, stwarza także perspektywy tworzenia ptaków „bioreaktorów" o zmodyfikowanym składzie jaj, umożliwiającym produkcję, w białku jaja kurzego, cennych, ludzkich białek leczniczych.

Literatura: 1. Ashwell C., James C.R., McMurtry J.P., Denbow D.M., Siegel P.B.: Plant and Animal Genome VII Conference, P71, San Diego, 1999; **2. Bednarczyk M., Łakota P., Siwek M.**: Improvement of hatchability of chicken eggs injected by blastodermal cells. Poultry Sci. 79, 2000 (w druku); **3. Bednarczyk M., Kiełczewski K., Szwaczkowski T., Płucienniczak A.**: Projekt KBN 5PO6 D 036 11, sprawozdanie końcowe, 1999; **4. Burt D.W., Bruley C., Dunn I.C., Jones C.T., Ramage A., Law A.S., Morrice D.R., Paton I.R., Smith J., Windsor D., Sazanov A., Fries R., Waddington D.**: Nature 402 (6760), 411-413, 1999; **5. Cheng K.M.**: Plant and Animal Genome VIII Conference, W, San Diego, 2000; **6. Groenen M.A.M., Cheng H.H., Bumsted N., Benkel B.F., Briles W.E., Burke T., Burt D.W., Crittenden L.B., Dodgson J., Hillel J., Lamont S., Ponce de Leon A., Soller M., Takahashi H., Vignal A.**: Genom Research 10 (1), 137-147, 2000; **7. Groenen M., Crooijmans R., Veenendaal T., Van Kaam J-T., Vereijken A., Van Arendonk J., Herbergs J., Van der Poel J.**: Plant and Animal Genome V Conference, S12, San Diego, 1997; **8. Smith J., Burt D.W.**: Animal Genetics 29, 290-294, 1998; **9. Smith J., Paton R.I., Horvat S., Burt D.W.**: Plant and Animal Genome VII Conference, P303, San Diego, 1999; **10. Smith E., Shi L., Prevost L., Southern K., Kleot S., Smith G.**: Plant and Animal Genome VIII Conference, P, San Diego, 2000; **11. Tixier-Boichard M., Coquerelle G., Vilela-Lamego C.**: Proc. Poultry Genetics Symposium, 15-21, Mariensee, 1999; **12. Van Kaam J.B.C.H.M., Groenen M.A.M., Bovenhuis H., Veenendaal A., Verijken A.L.J., Van Arendonk J.A.M.**: Poultry Sci. 78, 15-23, 1999; **13. Zawadzka M.**: Analiza genetyczna populacji gęsi zatorskiej i odmian pokrewnych za pomocą DNA fingerprinting. Dysertacja doktorska, IGiHZ PAN, Jastrzębiec 1999.

Artykuł dyskusyjny

Drogi i bezdroża reformy hodowli

Karol Kamiński

Reforma zarządzania hodowlą została zapowiedziana i częściowo już zrealizowana przez Centralną Stację Hodowli Zwierząt, po zatwierdzeniu przez Kolegium Ministerstwa Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej (26 maja 1995 r.) jej programu „Kierunki zmian w organizacji hodowli i rozrodu zwierząt gospodarskich". Program ten zakładał dokonanie zmian w organizacji CSHZ oraz dziewięciu stacjach hodowli i unasieniania zwierząt, które prowadziły działalność na podstawie Zarządzenia nr 139 Ministra Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej z 6 listopada 1991 r. w sprawie organizacji i zakresu działania CSHZ. Zmiany te miały polegać na:

♦ Dokonaniu restrukturyzacji, komercjalizacji, a następnie prywatyzacji stacji hodowli i unasieniania zwierząt, jako samodzielnych podmiotów gospodarczych.

♦ Przekształceniu okręgowych stacji hodowli zwierząt w stacje oceny zwierząt, prowadzące oficjalną ocenę użytkowości bydła i związane z nią laboratoria oraz ocenę użytkowości innych gatunków zwierząt gospodarskich.

♦ Powierzeniu związkom hodowców prowadzenie ksiąg zarodowych oraz tworzenie i realizacja programów hodowlanych dla poszczególnych gatunków i ras zwierząt gospodarskich.

♦ Po zniesieniu CSHZ w Warszawie utworzenie:

– stacji oceny zwierząt dla okręgu warszawskiego;

– Krajowej (bądź pozostawienie nazwy Centralnej) Stacji Oceny Zwierząt, posiadającej ośrodek przetwarzania danych w zakresie oceny, hodowli i unasieniania zwierząt gospodarskich oraz zespół laboratoriów i ośrodek szkoleniowy.

Podstawowym założeniem w procesie przekształceń było wykorzystanie istniejących struktur, ich bazy materialnej i merytorycznej, a także zatrudnionej kadry specjalistów.

Realizując zadania wynikające z programu „Kierunki zmian w organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich", dokonano wielu zmian w regulaminach organizacyjnych, komórkach merytorycznych, powołano nowe, nawiązano ścisłą współpracę z lokalnymi związkami hodowców, jak też Polską Federacją Hodowców Bydła i Krajowym Związkiem Hodowców Bydła Mięsnego.

Warto w tym miejscu przypomnieć, że podstawę prawną do realizacji zadań założonych w programie stanowić miała przygotowywana w tym czasie ustawa „O organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich", która została przyjęta przez Sejm 20 sierpnia 1997 roku. Ta konstytucja polskiej hodowli, jak często się ją określa, przedstawia (zgodnie z oczekiwaniami) rozwiązania w nowoczesnych formach i zbieżne z regulacjami obowiązującymi w Unii Europejskiej. Ustawa stwarza podstawę prawną do uspołecznienia i urynkowienia hodowli, określając jednocześnie zakres bezpośredniego oddziaływania państwa na tę sferę działalności w rolnictwie. Zapowiada przekazanie w ręce hodowców i organizacji rolników prowadzenie ksiąg zwierząt zarodowych i nadawanie kierunków w hodowli, poprzez ustalone przez nich samych