

Monitoring genetyczny bydła rasy polskiej czerwonej

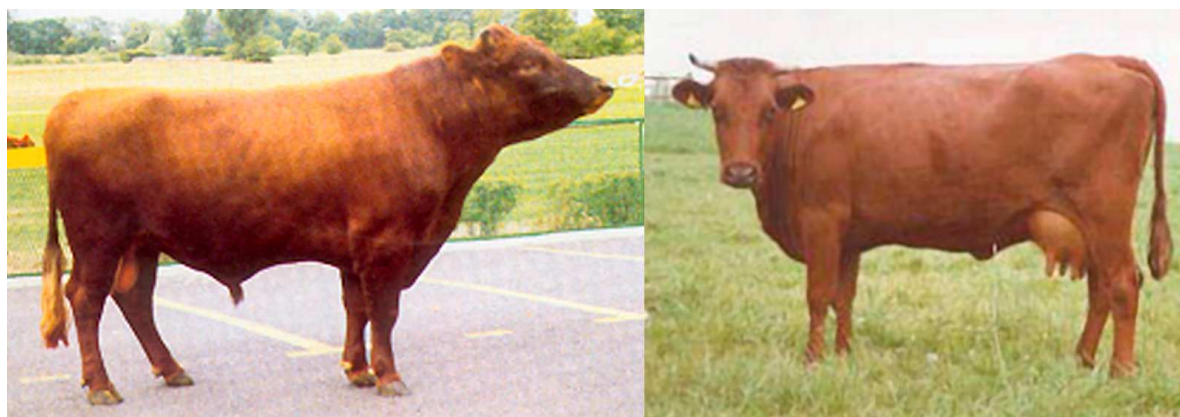
Ewa Słota, Barbara Danielak-Czech, Marian Duniec, Mariusz Kościelny,
Anna Kozubska-Sobocińska, Anna Radko, Barbara Rejduch,
Tadeusz Rychlik, Jan Trela*

*Instytut Zootechniki, Dział Immuno- i Cytogenetyki Zwierząt,
Dział Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt, 32-083 Balice k. Krakowa

Właściwa ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich nabiera w chwili obecnej szczególnego znaczenia w hodowli. Szacuje się, że w świecie około 30% tych zasobów jest poważnie zagrożonych z uwagi na intensywne doskonalenie niewielkiej liczby ras, o wysokiej wydajności w odniesieniu do pojedynczych cech. Powoduje to wypieranie ras przystosowanych do ekstensywnych warunków chowu i stresogennego środowiska (Hammond, 1997). Zjawiska te spowodowały uruchomienie programów hodowlanych, mających na celu zachowanie pierwotnych ras regionalnych jako rezerwy genetycznej. Takie

cechy, jak: zdrowotność, odporność, płodność mogą być utracone w populacjach selekcyjowanych w kierunku cech uznawanych obecnie za najważniejsze ze względów ekonomicznych (Majala, 1969; Alderson, 1994).

Bydło polskie czerwone jest rodzimą rasą hodowaną niegdyś na znacznych obszarach kraju, głównie południowej Polski (fot 1.). Bydło to, w typie mleczno-mięsnym, wyróżnia się dobrym stanem zdrowia, bardzo dobrą płodnością, długowiecznością, znaczną odpornością na choroby oraz małymi wymaganiami bytowymi (Gądek, 1998).



Fot. 1. Krowa i buhaj rasy polskiej czerwonej
Fig.1. Cow and bull of the Polish Red breed

Antygeny erycytarne krwi bydła ze względu na duży polimorfizm oraz fakt, że nie

zmieniają się w życiu osobniczym, są efektywnymi markerami szeroko stosowanymi, zarówno

do genetycznej charakterystyki różnych ras i odmian (Fiorentini i in., 1980; Kidd i in., 1980; Trela i in., 1982; Ertugrul i Alpan, 1990; Barker i in., 1997), jak również do oceny zmian zachodzących w strukturze genetycznej doskonalonych populacji zwierząt (Trela, 1977; Rychlik, 1986; Kantanen, 1999).

Badania struktury genetycznej bydła rasy polskiej czerwonej w oparciu o markery klasy I prowadzili m. in. Spryszak (1960), Dola i in. (1968), Żurkowski i in. (1969), Trela i in. (1976, 1984). Rychlik i in. (1999).

Prace prowadzone w Dziale Immunologii i Cytogenetyki Zwierząt Instytutu Zootechniki

można podzielić na 3 okresy:

- W latach 1965-1973 objęto badaniami 1264 sztuki bydła rasy pc. Materiał ten obejmował osobniki z terenu województw: krakowskiego, katowickiego, kieleckiego, rzeszowskiego, lubelskiego, olsztyńskiego i białostockiego.
- W latach 1977-1984 określono grupy krwi 1288 sztuk bydła rasy pc w rejonie zachowawczym, pochodzących z Państwowego Ośrodka Hodowli Zarodowej w Jodłowniku i od hodowców indywidualnych.
- W ostatnim okresie (1990-1998) przebadano 2322 sztuki z ośrodków hodowli zarodowej oraz z gospodarstw indywidualnych z terenów całej Polski, w których prowadzona była ocena użyteczności bydła pc.

Cechy antygenowe w 11 układach grupowych krwi (A,B,C,F,J,L,M,S,Z,R',T') oznaczono testem hemolitycznym przy użyciu reagentów uzyskanych w Dziale Immunologii i Cytogenetyki Zwierząt Instytutu Zootechniki i sprawdzonych w międzynarodowych testach porównawczych, organizowanych przez Międzynarodowe Towarzystwo Genetyki Zwierząt - ISAG (International Society for Animal Genetics).

Genotypy badanych zwierząt ustalono na podstawie analizy przekazywania fenogrup potomstwu, natomiast częstość cech antygenowych, fenogrup oraz genów obliczono metodami ogólnie stosowanymi (Trela, 1977; Rychlik, 1986).

W układach złożonych obliczono stopień homozygotyczności, który wyrażono jako sumę kwadratów wszystkich fenogrup oraz tzw. efektywną liczbę alleli „Na” uznaną za miernik zmienności genetycznej.

Wyniki przeprowadzonych badań dostarczyły informacji o występującym polimorfizmie antygenów erytrocytarnych w 11 układach grupowych krwi, w populacji bydła polskiego czerwonego w latach 1965-1998.

W tabeli 1 przedstawiono niektóre wskaźniki, charakteryzujące badaną populację w różnych okresach czasu. Porównanie częstości niektórych cech antygenowych, a także ilości i częstości B-fenogrup w poszczególnych okresach badań wykazało, że najczęstszymi allelami w układzie B u bydła pc są: BO1I'2Q", BO1Y1D'I'2Q", G2O4E'1O'G"2I'2Q". Można więc uznać, że są one charakterystyczne dla tej rasy. Ogólna ilość B-fenogrup, wartość stopnia homozygotyczności oraz efektywna liczba B-fenogrup wskazują, że w drugim i trzecim okresie badań nastąpiło zmniejszenie heterozygotyczności w badanym układzie grupowym krwi.

Wystąpienie pewnej zmienności genetycznej jest konieczne do uzyskania postępu hodowlanego, istnieje zatem potrzeba dalszego monitorowania zmian, jakie zachodzą w strukturze genetycznej niewielkiej już populacji bydła rasy pc. Przeprowadzone badania, a zwłaszcza wykonane w latach 1990-1998, w których obok układu B, po raz pierwszy ustalono i obliczono częstość fenogrup w pozostałych układach złożonych (A, C i S), mogą być w przyszłości wykorzystane do prześledzenia ewentualnych zmian struktury genetycznej tej rodzimej rasy bydła.

Tabela 1. B-fenogrupy występujące w badanej populacji bydła pc z częstością powyżej 5%
 Table 1. B-phenogroups in the studied population of Polish Red cattle with a frequency greater than 5%

B-fenogrupy <i>B-phenogroups</i>	1965-1973 * n = 1264	1977-1984 ** n = 1288	1990-1998 *** n = 2322	
BO1	0,0635	0,2000	BO1I'2Q''	0,1556
BO1Y2D'	0,0585	0,1237	BO1Y1D'I'2Q''	0,0918
G2OxE'1O'G''2	0,0575	0,0863	G2O4E'1O'G''2I'2Q''	0,1036
I1G'G''1	+	0,0670		+
OxB'E'2O'	+	0,0579		+
I2	+	+	I2Q''	0,0620
Y2Y'	+	+	Y2Y'Q''	0,0580
Ilość B-fenogrup powyżej 5% <i>Number of B-phenogroups > 5%</i>	3	5		5
∑ częstości B-fenogrup pow. 5% ∑ <i>frequency of B-phenogroups > 5%</i>	17,85	53,49		47,10
Ogólna ilość B-fenogrup <i>Total number of B-phenogroups</i>	176	86		77
St. homozygotyczności (%) <i>Degree of homozygosity (%)</i>	5,82	8,01		6,38
Efektywna liczba B-alleli <i>Effective number of B-phenogroups</i>	17,1	12,4		15,7

(+) Częstość <5% - (+) *Frequency <5%*.

* Badania Treli i in. (1976) - * *Own studies, Trela et al. (1976)*

** Badania Treli i in. (1984) - ** *Own studies, Trela et al. (1984)*

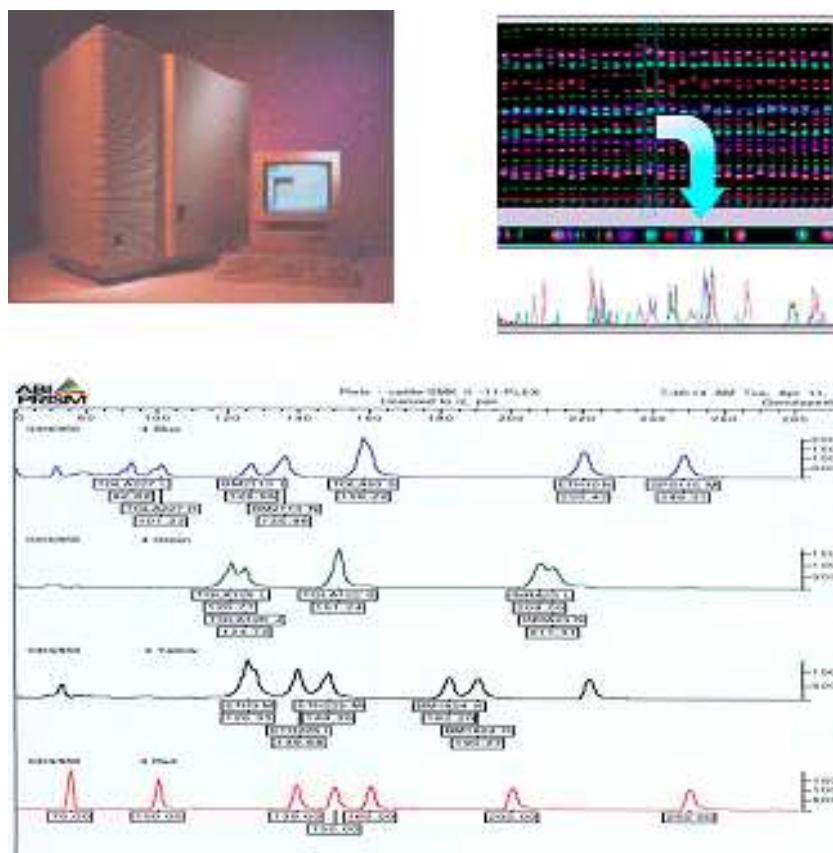
*** Badania Rychlika i in. (1999) - *** *Own studies, Rychlik et al. (1999)*

W ostatnich latach badania zmienności genetycznej bydła pc zostały poszerzone o analizę DNA (fot. 2). Do oceny zróżnicowania genetycznego wybrano wysokopolimorficzne markery mikrosatelitarne, które znalazły zastosowanie w badaniach bioróżnorodności wielu gatunków zwierząt hodowlanych (Peelman i in., 1998; Schmid i in., 1999; Luís in., 2002; Rychlik i in., 2003; Radko i in., 2005).

W Instytucie Zootechniki dotychczas przebadano 51 sztuk bydła pc, określając polimorfizm 11 sekwencji mikrosatelitarnych DNA (TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA126, TGLA122, INRA23, ETH3,

ETH225, BM1824), przy zastosowaniu techniki automatycznej analizy wielkości fragmentów DNA. Zaletą tej techniki jest precyzyjna identyfikacja wariantów polimorficznych w poszczególnych *loci*, zapewniająca powtarzalność otrzymywanych wyników (Zieglé i in., 1992).

U ocenianych zwierząt zidentyfikowano łącznie 76 alleli w 11 *loci*, przy czym największą liczbę - 9 alleli odnotowano w *locus* TGLA53. Pozostałe allele wykazywały dość równomierne rozmieszczenie w poszczególnych *loci* (od 6 do 8 alleli), z wyjątkiem *loci* TGLA122 i BM1824, w których stwierdzono obecność odpowiednio 5 i 4 alleli (tab. 2).



Fot. 2. Automatyczna analiza fragmentów DNA
Fig. 2. Automatic DNA sizing technology

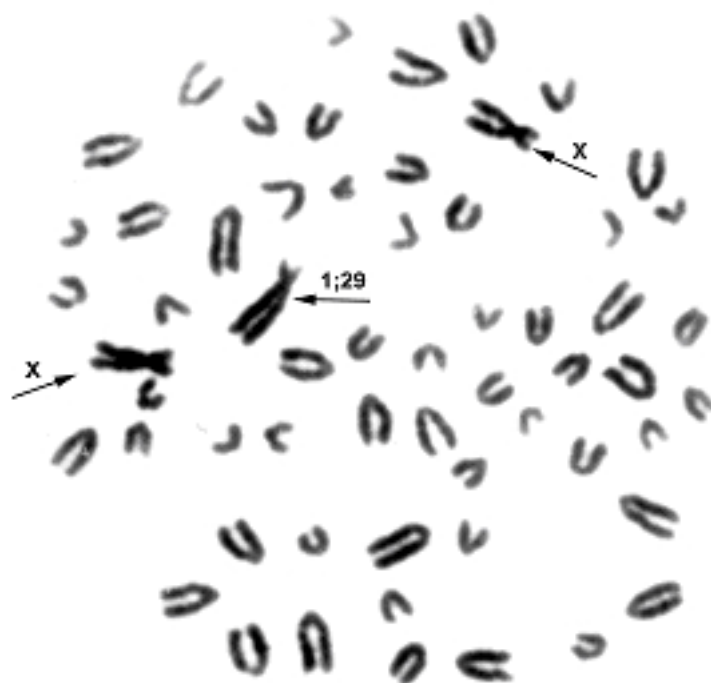
Na podstawie częstości występowania zidentyfikowanych alleli w poszczególnych *loci* określono polimorfizm 11 sekwencji mikrosatelitarnych DNA u badanej rasy bydła. Wyliczone w przedstawionej pracy parametry indeksu stopnia polimorfizmu (PIC) i stopnia heterozygotyczności (H) wykazały, że badane *loci* mikrosatelitarne w ocenianej populacji bydła charakteryzują się wysokim polimorfizmem (tab. 1).

Wartości PIC obliczone dla każdego markera były wyższe od 0,5, natomiast stopień heterozygotyczności (H) mieścił się w granicach od 61,2 do aż 84,5%. Najwyższy polimorfizm zaobserwowano w *loci* TGLA227, BM2113 i INRA23, dla których wyliczone wartości PIC i H wyniosły ponad 0,8. Najmniejsze zróżnicowanie odnotowano w *loci*

TGLA122 oraz TGLA126, dla których PIC i H wyniosły odpowiednio 0,559 i 0,630 oraz 0,570 i 0,612.

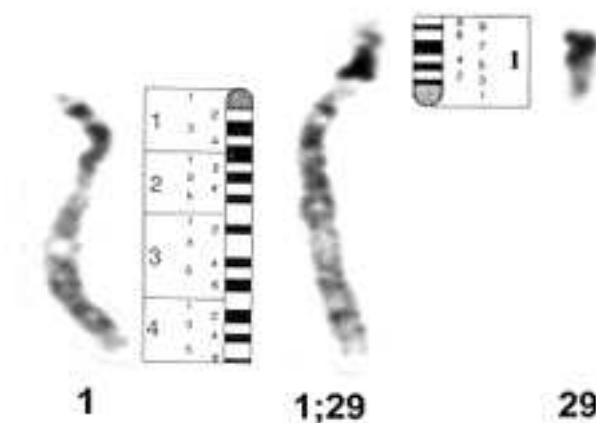
Stwierdzony znaczny polimorfizm ocenianych *loci* pozwala na wykorzystanie omawianego zestawu markerów w kontroli pochodzenia bydła rasy polskiej czerwonej. Prawdopodobieństwo wykluczenia ojcostwa, z uwzględnieniem możliwości przebadania osobników rodzicielskich, wyliczone dla wszystkich 11 *loci* łącznie, osiągnęło wartość 99,99%.

Powyższe wyniki jednoznacznie wskazują na przydatność badanych markerów w analizie zmienności genetycznej oraz weryfikacji rodowodów u bydła polskiego czerwonego.



Fot. 3. Rutynowo barwiona płytka metafazowa krowy – nosicielki translokacji robertsonowskiej 1;29 (forma heterozygotyczna)

Fig. 3. Conventionally stained metaphase plate of cow – carrier of Robertsonian translocation 1;29 (heterozygous form)



Fot. 4. Technika GTG – chromosom 1;29 i jego homologi
Fig 4. GTG technique – 1;29 chromosome and its homologues

Tabela 2. Polimorfizm sekwencji mikrosatelitarnych DNA u bydła rasy pc
 Table 2. Polymorphism of DNA microsatellite sequences in PR cattle

Marker	Liczba alleli <i>Number of alleles</i>	Zakres długości (pz) <i>Size range of alleles (bp)</i>	H	PIC
TGLA227	8	77-103	0,824	0,803
BM2113	8	121-141	0,830	0,808
TGLA53	9	154-182	0,775	0,751
ETH10	7	213-225	0,735	0,700
SPS115	6	248-258	0,759	0,729
TGLA126	6	115-125	0,612	0,570
TGLA122	5	141-169	0,630	0,559
INRA23	9	200-218	0,842	0,825
ETH3	8	109-129	0,760	0,732
ETH225	6	140-152	0,786	0,753
BM1824	4	178-188	0,688	0,627

W ramach kontroli cytogenetycznej bydła rasy polskiej czerwonej, objętej programem zachowania zasobów genetycznych, badano

krowy i buhaje przeznaczone do rozrodu. W latach 1989 – 2004 w Instytucie Zootechniki przebadano 465 sztuk bydła rasy pc (tab. 3).

Tabela 3. Nieprawidłowości chromosomowe zdiagnozowane u bydła rasy pc
 Table 3. Chromosomal abnormalities diagnosed in PR cattle

Stado <i>Herd</i>	Buhaje <i>Bulls</i>		Krowy i jałówki <i>Cows and heifers</i>		Razem <i>Total</i>
	liczba zwierząt <i>no. of animals</i>	liczba nosicieli aberracji chromosomowych <i>no. of chromosome aberration carriers</i>	liczba zwierząt <i>no. of animals</i>	liczba nosicieli aberracji chromosomowych <i>no. of chromosome aberration carriers</i>	
Jodłownik	53	1 (60,XX;60,XY)	-	-	53
Hańczowa	28	-	175	2 (60,XX;60,XY)	203
Elk	39	1 (t.rob.1;29)	79	2 (t.rob.1;29)	118
Baranowo	37	1 (60,XX;60,XY)	40	-	77
Czarny Dunajec	6	1 (60,XX;60,XY)	-	-	6
Szaflary	5	1 (t.rob.1;29)	3	3 (t.rob.1;29)	8
Razem <i>Total</i>	168	3 (60,XX;60,XY) 2 (t.rob.1;29)	297	2 (60,XX;60,XY) 5 (t.rob.1;29)	465

W badanej populacji, oprócz 5 przypadków chimeryzmu leukocyтарnego, najczęściej, bo aż siedmiokrotnie, diagnozowano aberrację strukturalną typu translokacji robertsonowskiej (fot. 3). W celu precyzyjnej identyfikacji autosomów zaangażowanych w translokację, wykonane po hodowli limfocytów preparaty chromosomów

metafazowych poddawano barwieniu różnicowemu technikami GTG oraz RBA.

Na podstawie porównania uzyskanego obrazu prążków z międzynarodowym wzorcem ISCNDB 2000 (Iannuzzi i in., 2001), stwierdzono, że w translokacji uczestniczyły chromosomy 1 i 29 pary (fot. 4).

Nosicielstwo tranlokacji 1;29 w formie heterozygotycznej związane jest najczęściej z obniżeniem wskaźników płodności obarczonych nią osobników. Fuzje centryczne przekazywane są potomstwu zgodnie z segregacją mendelowską (Gustavsson, 1969). Jeżeli segregacja chromosomów przebiega prawidłowo, to w jej wyniku powstają gamety o zrównoważonym kariotypie. Uzyskuje się wówczas zwierzęta, które posiadają kariotyp prawidłowy lub są nosicielami tranlokacji. Jeżeli natomiast występują zaburzenia segregacji, prowadzące w konsekwencji do powstawania wadliwych gamet, charakteryzujących się brakiem lub nadmiarem materiału genetycznego (gamety aneuploidalne), to powstaje zygota o niezrównoważonym karioty-

pie. Rozwijający się z niej zarodek zamiera w trakcie rozwoju płodowego.

Do chwili obecnej w populacji bydła hodowanego w Polsce tranlokacja 1;29 identyfikowana była u zwierząt rasy polskiej czerwonej (Sysa, 1976; Słota i in., 2004), nizinnej czarnobiałej (Słota i Danielak, 1984), Charolaise (Jędryczko i Sysa, 1998; Rejduch i in., 1994; Świ-toński i in., 1991) oraz mieszańców krów krajowych czarno-białych z buhajami rasy Blonde d'Aquitaine (Rejduch i in., 1994).

Zdiagnozowane ostatnio cztery przypadki tranlokacji robertsonowskiej 1;29 w stadzie bydła rasy polskiej czerwonej (Słota i in., 2004) sugerują konieczność monitoringu cytogenetycznego bydła ras zachowawczych.

Literatura

- Aldersson L. (1994). Organisation and utilisation of the genetic resources conserved in endangered breeds in livestock breeding programmes. Proc. Int. Symp.: Conservation measures for rare farm animal breeds. IZ, Balice; pp. 12-14.
- Barker J.S.F., Tan S.G., Sevaraj O.S., Mukherjee T.K. (1997). Genetic variation within and relationships among populations of Asian water buffalo (*Bubalus bubalis*). Anim. Genet., 28: 1-13.
- Dola L., Pawłowski M., Ormian M., Kaszycka H. (1968). The frequency of B-alleles in the Polish Red cattle from South Region of Poland. Proc. XIth Eur. Conf. Anim. Blood Grps Biochem. Polymorph., Warsaw; pp. 163-169.
- Ertugrul O., Alpan O. (1990). Blood group polymorphism in Turkish native cattle breeds. Proc. XXII. Int. Conf. Anim. Genet., Michigan; p. 17.
- Fiorentini A., Braend M., Mzee R.M. (1980). Red cell blood groups of East African Zebu cattle. Anim. Blood Grps Biochem. Genet., 11: 1: 43-47.
- Gądek M. (1998). Miejsce rasy polskiej czerwonej w hodowli bydła w Polsce południowej. Biul. Inf. IZ, 36, 1: 15-22.
- Gustavsson I. (1969). Cytogenetics, distribution and phenotypic effect of a translocation in Swedish cattle. Hereditas, 63: 67-169.
- Hammond K. (1997). The global strategy for management of farm animal genetic resources. Zesz. Nauk. PTZ, Prz. Hod., 33: 17-40.
- Iannuzzi L., Di Berardino D., Di Meo G.P., Gallagher D.S., Hayes H. (2001). International system for chromosome nomenclature of domestic bovids. Cytogenet. Cell Genet., 92: 283-299.
- Jędryczko R., Sysa P.S. (1998). Wystąpienie tranlokacji 1/29 w stadzie importowanego bydła rasy charolaise. Mat. XXXIV Sesji Nauk., Polanica Zdrój, s. 101.
- Kantanen J., Olsaker I., Adalsteinsson S., Sandberg K., Eythorsdottir E., Pirhonen K., Holm L.E. (1999). Temporal changes in genetic variation of North European cattle breeds. Anim. Genet., 30: 16-27.
- Kidd K.K., Stone W.H., Crimella C., Carenzi C., Casati M., Rognoni G. (1980). Immunogenetic and population genetic analyses of Iberian cattle. Anim. Grps Biochem. Genet., 11, 1: 21-38.
- Luís C., Gus Cothran E., Oom M.M. (2002). Microsatellites in Portuguese autochthonous horse breeds: usefulness for parentage testing. Genet. Molecul. Biol., 25: 131-134.
- Maijala K. (1969). Need and methods of gene conservation in animal breeding. Europ. Assoc. for Anim. Prod., Commission on Animal Genetics. Helsinki.
- Peelman L.J., Mortiaux F., Van Zeveren A., Dansercoer A., Mommens G., Coopman F., Bouquet Y., Burny A., Renaville R., Portetelle D. (1998). Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. Anim. Genet., 29: 161-167.
- Radko A., Żyga A., Ząbek T., Słota E. (2005). Genetic variability among Polish Red, Hereford and Holstein-Friesian cattle raised in Poland based on analysis of microsatellite DNA sequences. J. Appl. Genet., 46.

- Rejduch B., Słota E., Świtoński M. (1994). Cytogenetic analysis of beef cattle. *Genet. Pol.*, 35: 323-332.
- Rychlik T. (1986). Grupy krwi jako markery zmian struktury genetycznej w populacji bydła. *Rocz. Nauk. Zoot., Monogr. Rozpr.*, 24: 85-101.
- Rychlik T., Duniec M.J., Duniec M., Kościelny M. (1999). Characteristics of the genetic structure of Polish Red cattle in blood group studies. *Ann. Anim. Sci.*, 26, 4: 11-22.
- Rychlik T., Radko A., Duniec M. (2003). Ocena przydatności polimorfizmu niektórych markerów genetycznych w kontroli rodowodów owiec. *Med. Wet.*, 59: 1016-1018.
- Schmid M., Saitbekova N., Gaillard C., Dolf G. (1999). Genetic diversity in Swiss cattle breeds. *J. Anim. Breed. Genet.*, 116: 1-8.
- Słota E., Danielak B. (1984). Przypadek translokacji 1/29 u krowy rasy nizinnej czarno-białej. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 11; 1: 9-14.
- Słota E., Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B., Rejduch B., Kowol P., Żyga A. (2004). A note on cytogenetic monitoring of Polish Red cattle. *J. Anim. Feed Sci.*, 13: 65-71.
- Spryszak A. (1960). Badania grup krwi u bydła rasy czerwonej polskiej. *Rocz. Nauk Rol.*, 76-B-1: 1-20.
- Sysa P.S. (1976). Translokacja chromosomalna 1/29 u dwóch buhajków rasy polskiej czerwonej. *Med. Wet.*, 32: 353-355.
- Świtoński M., Lechniak D., Landzwojczak D. (1991). Cytogenetic survey of bulls used in artificial insemination. Reproductive performance of XY/XX chimeric bulls. *Genet. Pol.*, 32: 227-233.
- Trela J. (1977). Zmiany genetyczne u bydła rasy nizinnej czarno-białej w okresie 10 lat, oceniane na podstawie wyników badań grup krwi. *Rozpr. hab. Wyd. własne IZ*, 406.
- Trela J., Rychlik T., Żur F., Kraszewska D. (1976). Immunogenetyczna charakterystyka mieszańców krzyżówkowych bydła rasy czerwonej polskiej i czerwonej duńskiej. *Post. Nauk Rol.*, 180: 393-398.
- Trela J., Rychlik T., Kraszewska D. (1982). Blutgruppen bei schwarzbunter Rinderrasse in Polen. 33 Jahrestagung der Europäischen Vereinigung für Tierzucht. Leningrad, 11.
- Trela J., Kraszewska D., Trela E., Rychlik T., Żur F. (1984). Polimorfizm grup krwi i typów transferyn u bydła rasy polskiej czerwonej w rejonie zachodowym. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 267: 29-34.
- Ziegle J.S., Su Y., Corcoran K.P., Nie L., Mayrand P.E., Hoff L.B., McBride L.J., Kronick M.N., Diehl S.R. (1992). Application of automated DNA sizing technology for genotyping microsatellite loci. *Genom.*, 14: 1026-1031.
- Żurkowski M., Szeniawska D., Grzybowski G. (1969). Changes in the frequency of B-alleles in herd of Polish Red cattle, in the years 1958-1968. *Genet. Pol.*, 3-4: 200-202.

GENETIC MONITORING OF POLISH RED CATTLE

Summary

This paper presents the results of studies conducted at the National Research Institute of Animal Production concerning genetic monitoring of Polish Red cattle.

As part of blood group tests, the genetic structure of PR cattle was analysed. Using test reagents obtained at the Department of Animal Immuno- and Cytogenetics, we determined blood antigens in 4874 head of Polish Red cattle. The results of the studies provided information on the polymorphism of erythrocyte antigens in 11 blood group systems, in a population of Polish Red cattle in the years 1965-1998. Comparison of the frequency of some antigens and the amount and frequency of B-phenogroups in particular periods of the study showed that the most frequent alleles in the B system in PR cattle are BO1I'2Q", BO1Y1D'I'2Q", G2O4E'1O'G"2I'2Q". Total number of B-phenogroups, the degree of homozygosity and the effective number of B-phenogroups indicate a decrease in heterozygosity in the blood group systems analysed.

In DNA studies, a total of 76 alleles at 11 *loci* were identified. The greatest number of alleles was noted at *locus* TGLA53 (9 alleles). The other alleles showed fairly uniform distribution within different loci (6 to 8 alleles), except the loci TGLA122 and BM1824, in which the presence of 5 and 4 alleles was found.

The parameters of polymorphic information content (PIC) and degree of heterozygosity (H) calculated in the present study showed that the analysed microsatellite *loci* in the estimated cattle population are characterized by high polymorphism.

As part of cytogenetic control, 465 PR cattle designated for reproduction were investigated. In the analysed population, in addition to 5 cases of leucocytic chimerism, 1;29 Robertsonian translocation was diagnosed the most often (seven times).