

Zarys problematyki badań z zakresu genetyki i genomiki prowadzonych u polskich zachowawczych ras zwierząt w ramach projektu BIOSTRATEG*

Artur Gurgul¹, Magdalena Szyndler-Nęcza², Grzegorz Smolucha¹, Piotr Topolski², Jan Knapik², Katarzyna Ropka-Molik¹, Mirosław Tyra², Jędrzej Krupiński³

*Institut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, 32-083 Balice k. Krakowa,
¹Dział Genomiki i Biologii Molekularnej Zwierząt, ²Dział Genetyki i Hodowli Zwierząt,
³Dział Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt*

Celem niniejszego artykułu jest charakterystyka oraz popularyzacja wybranych aspektów badań z zakresu genetyki i genomiki prowadzonych u polskich ras zachowawczych w ramach jednego z zadań projektu BIOSTRATEG pt.: „Kierunki wykorzystania oraz ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w warunkach zrównoważonego rozwoju”. Projekt ten jest finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki i realizowany przez Instytut Zootechniki PIB. Instytut Zootechniki jako koordynator programu ochrony ras zachowawczych, ze względu na posiadaną infrastrukturę i potencjał, jest pionierem badań z zakresu genomiki u tych zwierząt i podjął się poszukiwania unikatowych cech genomu, stanowiących przedmiot ochrony bioróżnorodności. Opisywane badania obejmują zagadnienia zarówno z dziedziny genetyki populacji, genetyki cech ilościowych, jak również transkryptomiki i dają silne podstawy do dalszych badań zmierzających do identyfikacji podłoża

genetycznego cennych cech fenotypowych polskich ras oraz ich wykorzystania w ekstensywnej produkcji zwierzęcej.

1. *Badania z zakresu genetyki populacji* (autor: Artur Gurgul)

Znaczenie ochrony bioróżnorodności dla zachowania ekosystemów i prowadzenia zrównoważonej produkcji zwierzęcej jest nie do przecenienia i było podkreślane w wielu wcześniejszych artykułach (Groeneveld i in., 2010; Broom i in., 2013). Istotnym elementem zachowania różnorodności biologicznej w produkcji zwierzęcej jest ochrona autochtonicznych, dostosowanych do miejscowych warunków środowiskowych i żywieniowych ras zwierząt. Ma ona na celu utrzymanie zróżnicowanej puli genowej poszczególnych gatunków, obejmującej możliwie jak największą liczbę wariantów odpowiedzialnych za pierwotne cechy gatunku, które mogły zostać bezpowrotnie utracone w wyniku intensywnej, sztucznej selekcji (Groeneveld i in., 2010). Szczególnie ważne w tym aspekcie wydają się być warianty związane z cechami takimi, jak zdrowotność, płodność i długowieczność, które uległy najszybszej degradacji u intensywnie selekcyjowanych wysokoprodukcyjnych ras (Lucy, 2001). Duże znaczenie dla jakości i użyteczności puli genowej populacji zachowawczych ma ich zmienność genetyczna, która jest niezbędnym warunkiem za-

*Praca wykonana w ramach projektu „Kierunki wykorzystania oraz ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w warunkach zrównoważonego rozwoju” współfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” – BIOSTRATEG, nr umowy: BIOSTRATEG2/297267/14/NCBR/2016.

chowania zdolności adaptacyjnych populacji czy też prowadzenia późniejszych prac hodowlanych (Groeneveld i in., 2010).

Pomimo że programy ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich są z powodzeniem realizowane od co najmniej kilku/kilkudziesięciu lat, to zostały one wprowadzone dopiero w momencie, gdy populacje rodzimych (wciąż noszących prymitywne cechy) ras zwierząt uległy już silnej redukcji z powodu rosnącego zainteresowania hodowców wysoko wyspecjalizowanymi i wysokoprodukcyjnymi rasami zwierząt. Fakt ten ma istotne znaczenie dla zmienności chronionej puli genowej oraz wywarł istotne piętno na sposobach realizacji samego programu hodowli stad zachowawczych. Program ten skupia się bowiem na ścisłym kontrolowaniu doboru par do kojarzeń oraz poziomu inbrodu w obrębie populacji, tak aby maksymalizować zmienność genetyczną dostępnej puli genowej. O ile tradycyjne miary inbrodu i stopnia spokrewnienia pomiędzy osobnikami, oparte o analizę rodowodów są dobrym narzędziem pozwalającym na ocenę stanu populacji w stadach z dostępną wieloletnią dokumentacją hodowlaną, o tyle ich zalety ulegają pomniejszeniu w przypadku wczesnych etapów hodowli zachowawczej. Wtedy bowiem często informacja dotycząca rodowodu zwierząt jest płytka, a kryterium kwalifikacyjnym jest raczej typ rasowy niż udokumentowane pochodzenie po rasowych rodzicach (Zhang i in., 2015). W takich przypadkach dobrym rozwiązaniem wydaje się być zastosowanie metod z zakresu genetyki molekularnej i genomiki, które na podstawie analizy polimorfizmu DNA, a przede wszystkim polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (ang. *single nucleotide polymorphisms*; SNP) pozwalają na dokładne szacowanie parametrów populacyjnych i poziomu podobieństwa/zróźnicowania genetycznego osobników. Informacja genomowa pozwala na badanie globalnego poziomu zmienności i podobieństwa osobników poprzez ocenę poziomu identyczności markerów poprzez stan (prawdopodobnie będącej wynikiem losowego łączenia się wariantów genów o wspólnym, dawnym pochodzeniu filogenetycznym, lecz nie bezpośredniego spokrewnienia zwierząt; ang. *identity by state*; IBS). Pozwala także na oszacowanie, jaką część genomu poszczególne zwierzę-

ta mają wspólną dzięki pochodzeniu od bardziej współczesnego wspólnego przodka (VanRaden i in., 2011). Wysoki poziom podobieństwa genomów w populacji świadczy o niskim poziomie zmienności genetycznej i może być obserwowany nawet w dużych populacjach, wywodzących się od niewielkiej grupy przodków założycieli. Ma to miejsce np. w przypadku populacji, które doświadczyły niedawnej redukcji liczebności – zwanej efektem wąskiego gardła bądź efektem szyjki od butelki (ang. *population bottleneck*) (Jarvis i in., 2011). Takiego zjawiska demograficznego można dopatrywać się w historii hodowli wszystkich polskich ras zachowawczych, u których na różnych etapach ich istnienia doszło do szybkiego zmniejszenia liczebności populacji, głównie pod wpływem ekspansji komercyjnych, wysokoprodukcyjnych ras zwierząt. Tego typu zdarzenia populacyjne, pomimo późniejszego szybkiego przyrostu liczebności populacji pozostawiają w genomach zwierząt wyraźny ślad i często są związane z późniejszą niewielką efektywną wielkością populacji, wynikającą z małej liczby segregujących wariantów genetycznych (Jarvis i in., 2011). Istnieje co najmniej kilka metod pozwalających na ocenę poziomu wsobności w populacjach z wykorzystaniem metod genomiki. Najprostszą z nich, bardzo przydatną do oceny poziomu wsobności w obrębie populacji, jest statystyka F_{IS} według Wrighta (1965), pozwalająca na określenie proporcjonalnej redukcji heterozygotyczności z powodu kojarzenia wsobnego w stosunku do subpopulacji jako całości. Bardziej złożone metody wykorzystują macierz spokrewnień genomowych, która pozwala na określenie zarówno poziomu spokrewnienia danego osobnika z całą badaną populacją, jak również inbrodu poszczególnych osobników, obliczanego jako średnia elementów diagonalnych macierzy dla wszystkich SNP (VanRaden i in., 2011). Jak dotąd, metodą najlepiej odpowiadającą klasycznemu współczynnikowi inbrodu jest szacowanie współczynnika wsobności w oparciu o tzw. ciągi homozygotyczności (ang. *runs of homozygosity*; ROH) (Gurgul i in., 2016 b). Ciągi homozygotyczności są długimi homozygotycznymi fragmentami genomu, powstającymi w wyniku odziedziczenia przez danego osobnika dwóch identycznych haplotypów, wywodzą-

cych się prawdopodobnie od wspólnego przodka (Marras i in., 2014). Im dłuższy jest ciąg homozygotyczności, tym większa jest szansa, że jest on autozygotyczny, a więc tworzące go haplotypy są identyczne dzięki pochodzeniu (ang. *identity by descent*; IBD). Ciągi homozygotyczności o mniejszych długościach są prawdopodobnie rezultatem dawniejszego spokrewnienia przodków badanych osobników, a tworzące je haplotypy uległy rekombinacji na przestrzeni kolejnych generacji (Ferencakovic i in., 2011). Współczynnik inbrodu obliczany na podstawie ROH (F_{ROH}) odpowiada więc części genomu danego osobnika, która wykazuje utratę heterozygotyczności w postaci ROH. W dotychczasowych badaniach stwierdzono, że współczynnik ten wykazuje umiarkowaną bądź silną korelację (od 0,6 do 0,9) z klasycznym współczynnikiem inbrodu i może być użyteczną i dokładną miarą inbrodu populacji w przypadku, gdy dane rodowodowe nie są wystarczająco dokładne (Gurgul i in., 2016 b).

Dane odnośnie genotypów genowych paneli markerów SNP pozwalają także na znacznie głębszą analizę struktury genetycznej populacji ras zachowawczych. Przykładowo, analiza zasięgu i rozpadu nierównowagi sprzężeniowej pomiędzy markerami jest w stanie odpowiedzieć nie tylko na pytania odnośnie obecnego stanu zmienności genetycznej populacji, ale także pozwala prześledzić zmiany w efektywnej wielkości populacji zachodzące na przestrzeni minionych pokoleń (Waples i England, 2011). Dokładne szacowanie efektywnej wielkości populacji, definiowanej jako teoretyczna minimalna populacja, w której zmiany we frekwencji alleli będą zachodziły tak jak w całej populacji, jest ważnym elementem genetyki populacji i mówi (w uproszczeniu) o tym, ile różnych genomów segreguje w populacji, a więc jest znacznie ważniejszą miarą zmienności niż rzeczywista wielkość populacji (Waples i Yokota, 2007). W ramach części zadań realizowanych w ramach projektu BIOSTRATEG podjęliśmy się zbadania nie tylko struktury, zmienności i wzajemnych relacji pomiędzy populacjami chronionych ras, lecz także oceny użyteczności różnych miar inbrodu genomowego do oceny aktualnego stanu puli genowej chronionych zwierząt. Wstępne wyniki otrzymane dla wybranych ras wskazują, że pomimo znacznej redukcji li-

czebności populacji obecne stada zachowawcze zachowują poziom zmienności genetycznej porównywalny do licznych populacji ras komercyjnych. Dobrym przykładem może tu być bydło rasy polskiej czerwonej, dla którego stwierdzono stosunkowo niski poziom inbrodu genowego, relatywnie wysoką efektywną wielkość populacji oraz wyraźną odrębność struktury genetycznej od badanych komercyjnych ras bydła. Niemniej jednak, struktura nierównowagi sprzężeniowej oraz pewna nadreprezentacja długich fragmentów ROH w genomie tej rasy wskazują na ślady niedawnego efektu wąskiego gardła, nie wpływającego jednak na globalny poziom zmienności genetycznej w tej rasie.

2. Identyfikacja czynników genetycznych powiązanych z cennymi cechami fenotypowymi ras zachowawczych (autor: Artur Gurgul)

Wykorzystanie narzędzi genomiki nie ogranicza się wyłącznie do badań z zakresu struktury i zmienności genetycznej populacji. Prowadzone dotychczas badania wykazały ogromne możliwości aplikacyjne badań genomowych na polu genetyki cech ilościowych i identyfikacji źródeł zmienności ważnych cech fenotypowych, takich jak np. cechy produkcyjne (Minozzi i in., 2013). Niestety, badania z tego zakresu w większości przypadków wymagają licznych grup badawczych, dobrze scharakteryzowanych pod względem fenotypu, struktury spokrewnienia oraz cech genomu. Ma to związek z faktem, że większość cech mających charakter ilościowy jest warunkowana przez wiele rozproszonych w całym genomie polimorfizmów, których efekt cząstkowy na cechę jest niewielki (Hong i Park, 2012). W związku z ogromnymi kosztami prowadzenia tego typu badań, generowanymi przez konieczność oznaczenia genotypów i fenotypów dużych populacji zwierząt, podjęto próby identyfikacji charakterystycznych śladów pozostawionych w genomach zwierząt w wyniku działania presji selekcyjnej, ukierunkowanej na doskonalenie poszczególnych cech fenotypowych. Zaletą tego podejścia jest uniezależnienie badań od dostępności szczegółowych informacji na temat fenotypu zwierząt, a także możliwość zastosowania ich w stosunkowo niewielkich grupach

badawczych (De Simoni Gouveia i in., 2014). Oczywiście, podejście to nie jest pozbawione wad. Zwierzęta są najczęściej selekcyjonowane jednocześnie pod kątem wielu różnych cech (np. wydajność mleka, płodność, zawartość białka), a sygnatury selekcji powstałe w genomach w wyniku jej działania są podobne i niemożliwe do rozróżnienia bez stosowania złożonych badań porównawczych (Gurgul i in., 2016 a). Niemniej jednak, identyfikacja śladów selekcji umożliwia detekcję regionów genomu, w których są zlokalizowane warianty genów, podlegające szybkiemu wzrostowi częstości alleli pod wpływem działania presji selekcyjnej i w połączeniu z późniejszą identyfikacją genów kandydujących mogą wskazać lokalizację genów głównych poszczególnych cech produkcyjnych (Ma i in., 2015). W przypadku hodowli zachowawczej, pomimo braku właściwej selekcji odnośnie cech produkcyjnych, sama (oparta na wzorcu rasowym) kwalifikacja zwierząt do programu może także być traktowana jako ekstensywna selekcja i prowadzić do podobnych, choć mniej wyraźnych zmian we frekwencji alleli. Na szczególną uwagę w tym przypadku zasługują regiony genomu o wysokiej homozygotyczności, charakterystyczne dla wariantów genów odpowiedzialnych za utrwalone cechy fenotypowe poszczególnych ras zwierząt (Nielsen i in., 2005). Dotychczas zaproponowano co najmniej kilka metod umożliwiających identyfikację sygnatur selekcji. Metody te można podzielić na dwie grupy, w przypadku których istnieje różnica w sposobie wyznaczania bazowych poziomów frekwencji alleli, pozwalających na odróżnienie zmian w częstości genów zachodzących w wyniku dryfu genetycznego do działania kierunkowej selekcji. W przypadku pierwszej grupy metod, bazowy poziom częstości alleli jest wyznaczany poprzez porównanie badanej rasy z innymi rasami selekcyjonowanymi pod kątem odmiennych cech fenotypowych. Porównania takiego dokonuje się za pomocą różnych miar zróżnicowania genetycznego, z których najpopularniejszą jest standaryzowany współczynnik F_{ST} wg Wrighta (1965). Metoda ta identyfikuje charakterystyczne dla rasy sygnatury selekcji i pozwala na wnioskowanie na temat podłoża genetycznego unikalnych cech rasowych (Ma i in., 2015). Inne metody skupiają się na analizie struktury haplotypów w ob-

rzebie poszczególnych ras. U podstaw tych metod leży założenie, że nowo powstałe warianty genów podlegające silnej presji selekcyjnej będą ulegały szybkim zmianom we frekwencji, zmierzającym do utrwalenia wariantu w populacji, a otaczające je haplotypy będą długie ze względu na stosunkowo wolne działanie mechanizmów rekombinacyjnych (Sabeti i in., 2002). Metody te pozwalają na identyfikację regionów genomu podlegających silnej presji selekcyjnej w obrębie pojedynczej populacji i nie są obciążone błędem wynikającym z nieprawidłowego doboru grupy porównawczej.

W ramach zadań realizowanych w projekcie BIOSTRATEG podjęliśmy się więc również identyfikacji sygnatur selekcji u polskich zachowawczych ras zwierząt w odniesieniu do ras komercyjnych, ze szczególnym uwzględnieniem sygnatur różnicowej selekcji, szczególnie pośród ras wywodzących się historycznie z tej samej grupy rasowej i podlegających później różnicowej selekcji. Analizy te umożliwiają identyfikację regionów genomu i potencjalnych genów kandydujących odpowiedzialnych za unikalne cechy rasowe i dają podłoże do identyfikacji wariantów genetycznych, które powinny podlegać szczególnej ochronie ze względu na ich znaczenie dla różnorodności genetycznej ras zachowawczych. Wstępne wyniki badań z tego zakresu uzyskane dla świń rasy złotnickiej pstrej wskazały potencjalne przyczyny dużego otluszczenia występującego u tej rasy i dały obiecujące przesłanki odnośnie dalszych badań jej genomu.

3. *Analiza genetycznego podłoża istotnych cech produkcyjnych świń ras zachowawczych na poziomie transkryptomu* *(autorzy: Mirosław Tyra, Katarzyna Ropka-Molik)*

Z obserwacji trendów światowych w genetyce wynika, że na przestrzeni kolejnych lat zasadniczym zagadnieniem badawczym będzie wypełnianie luki w wiedzy odnośnie mechanizmów ekspresji genomu, a więc poznanie szeregu procesów, jakie muszą zajść, aby warianty genetyczne obecne w DNA wyraziły się w postaci cech fenotypowych. Podstawowym mechanizmem ekspresji genomu jest transkrypcja, która tworzy bazę cząstek mRNA niezbędnych do syntezy poszczególnych białek, zaangażowanych m.

in. w kształtowanie cech fenotypowych. Dobrym modelem dla tego typu badań są populacje zwierząt ras zachowawczych, charakteryzujące się wysokim poziomem zmienności cech użytkowych i prawdopodobnie wyraźnymi różnicami w poziomach transkryptów genów stanowiących podłoże różnorodności fenotypowej poszczególnych osobników. Dlatego też, w ramach realizowanych badań zaproponowano nowe, wysoko wydajne podejście odnośnie poszukiwania genetycznych mechanizmów warunkujących zmienność cech użytkowych. Jest to nowa metoda analityczna, tzw. Sekwencjonowanie Następnej/Nowej Generacji (ang. *Next Generation Sequencing*; NGS), która umożliwia analizę całego transkryptomu. Sekwencjonowanie RNA za pomocą metody RNA-seq pozwala na pomiar ekspresji genów w skali całego genomu, w tym dokładne określenie poziomu transkryptu genów ulegających niskiej ekspresji. Ponadto, w porównaniu do techniki mikromacierzy cDNA analiza transkryptomu metodą RNA-seq umożliwia wykrywanie nowych transkryptów lub ich izoform, analizę cząsteczek niekodującego RNA oraz detekcję mutacji w sekwencjach kodujących (Ferraz i in., 2008; Trapnell i in., 2009). U świń, metoda RNA-seq została z powodzeniem wykorzystana do badań globalnego profilu ekspresji genów w tkankach gonad (Esteve-Codina i in., 2011) oraz w macicy (Samborski i in., 2013 a, b). Esteve-Codina i in. (2011), porównując profil transkryptomiczny tkanki gonad pomiędzy dwiema skrajnymi fenotypowo rasami świń zaobserwowali istotne różnice w ilości mRNA dla genów zaangażowanych w metabolizm lipidów oraz proces spermatogenezy. Uzyskane wyniki potwierdziły różnice fenotypowe w otluszczeniu i plenności pomiędzy dwiema analizowanymi rasami. Ponadto, najnowsze badania przeprowadzone dzięki wykorzystaniu metody RNA-seq umożliwiły poznanie kompleksowych zmian transkryptomu w endometrium świni, zachodzących podczas procesu implantacji oraz we wczesnych etapach ciąży (Samborski i in., 2013 a, b). Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy wytypowali nowe szalki metaboliczne oraz interesujące geny kandydujące zaangażowane w procesy remodelowania endometrium podczas placentacji.

Celem prowadzonych badań jest wyty-

powanie genów o różnicowej ekspresji pomiędzy próbkami pozyskanymi od zwierząt ras zachowawczych (świnie rasy puławskiej oraz złotnickiej pstrej) o skrajnych parametrach analizowanych grup cech użytkowych przy zastosowaniu metody sekwencjonowania RNA (RNA-seq). Realizowane to będzie poprzez:

- Sekwencjonowanie RNA metodą NGS (*Next Generation Sequencing*). Zastosowanie przesiewowej metody sekwencjonowania RNA (RNA-seq) pozwoli na wstępne wytypowanie genów o różnicowej ekspresji pomiędzy próbkami pozyskanymi od zwierząt o skrajnych parametrach analizowanych cech użytkowych. Etap ten będzie wykonany dla trzech niezależnych grup cech użytkowych (cech tucznych ze szczególnym uwzględnieniem efektywności wykorzystania paszy, grupy cech związanych z jakością mięsa oraz grupy cech rzeźnych);
- Walidację uzyskanych wyników metodą Real-Time PCR. Dokładny poziom ekspresji wybranych genów zostanie oszacowany metodą Real-Time PCR. Poziom transkryptu genów o istotnie największej różnicy w poziomie transkryptu pomiędzy badanymi grupami zwierząt zostanie oznaczony metodą ilościowego PCR z wykorzystaniem sond znakowanych fluorescencyjnie;
- Analizę asocjacji wybranych SNP z cechami użytkowymi. Na podstawie analizy RNA-seq zostaną wybrane geny o różnicowej ekspresji, potencjalnie związane z poszczególnymi grupami zwierząt także zróżnicowanych pod względem cech użytkowych. Wykorzystanie informacji dotyczącej sekwencji poszczególnych genów uzyskanych metodą sekwencjonowania NGS umożliwi wytypowanie polimorfizmów w obrębie interesujących genów, dla których zostanie dobrana szybka i tania metoda identyfikacji SNP przy użyciu enzymów restrykcyjnych – PCR-RFLP. Oszacowane powiązania pomiędzy allelami poszczególnych genów a wytypowanymi cechami (w obrębie danej grupy cech użytkowych) dadzą odpo-

wiedź, czy geny te będzie można uznać za markery ważne z hodowlanego i gospodarczego punktu widzenia. Wyniki tych analiz pozwolą na sprawdzenie, czy zachodzi ujemna interakcja pomiędzy cechami rzeźnymi, tucznymi a cechami jakości mięsa na poziomie wytypowanych genów.

Do realizacji tego podzadania będą wykorzystane między innymi zwierzęta ras zachowawczych (złotnickiej białej, puławskiej), których genom nie był poddany silnej presji selekcyjnej, co gwarantuje dużą zmienność w zakresie analizowanych cech, niezbędną w tej metodzie. Uzyskane dzięki temu większe różnice w poziomie analizowanych cech oraz teoretycznie większa pula form polimorficznych mogą przyczynić się do dokładniejszego typowania genów, które warunkują poziom analizowanych cech.

Zastosowana metoda oraz analizy statystyczne dadzą aktualnie najbardziej obiektywny obraz genetycznych mechanizmów warunkowania zmienności w obrębie analizowanych cech. Wytypowane tą drogą grupy genów zostaną poddane walidacji oraz analizie asocjacji, co da odpowiedź na pytanie, czy geny te będzie można uznać za markery ważne z hodowlanego i gospodarczego punktu widzenia. Jest to nowoczesne podejście do zagadnienia, którego rezultatem jest wytypowanie grupy genów na podstawie złożonych analiz różnicowych, wynikające z rzeczywistych różnic w poziomie analizowanych cech użytkowych zwierząt. Dotychczasowe badania z tego zakresu opierały się na analizie pojedynczych mutacji, a w tym przypadku wynik to sumaryczne oddziaływanie całego spektrum genów na daną użytkowość, a więc metoda dająca bardziej obiektywny wynik. W ramach prowadzonych badań będą poszukiwane genetyczne mechanizmy warunkowania zmienności cech. Jednym z aspektów podjętych badań jest także czynnik ekonomiczny wynikający z efektywności tuczu. Największy udział w całkowitych kosztach tuczu stanowi żywienie tuczników, a więc koszty paszy. Średnio koszty te stanowią około 80% wszelkich nakładów poniesionych na wyprodukowanie tuczniaka. W krajach, gdzie produkcja tuczników jest oparta na fermach wielkotowarowych, czyn-

nik ekonomiczny, jakim jest wykorzystanie paszy, jest uwzględniany w programach hodowlanych, a jego waga w całym modelu jest znaczna. Inny kierunek poszukiwań dotyczy parametrów związanych z jakością mięsa. Tak więc, przedstawiony projekt obejmuje całe spektrum cech związanych z tuczem i jego efektywnością, a także jakością mięsa. Ponadto, szczegółowo są analizowane związki nie tylko pojedynczych genów, ale całych grup genów (także w układach haplotypowych i pseudo-haplotypowych) w odniesieniu do poszczególnych grup cech. Takie ukierunkowanie tematu badań da dokładniejszą odpowiedź na temat mechanizmów warunkowania danej cechy.

Wynikami prowadzonych badań mogą być zainteresowane podmioty odpowiedzialne za kreowanie i koordynację programów ochrony bioróżnorodności. W przypadku populacji ras zachowawczych uzyskane wyniki pozwolą na kontrolę puli genowej odpowiedzialnej za obserwowaną bioróżnorodność, bowiem otrzymają informacje o frekwencji genotypów w poszczególnych populacjach (rasach) warunkującą obserwowaną bioróżnorodność w zakresie analizowanych cech produkcyjnych. Pozwoli to na opracowanie mechanizmów kontroli tej puli genów i monitoringu jej zmian wynikających z zagrożeń obserwowanych w małych populacjach (selekcji i dryfu genetycznego) na poziomie genetycznym. Zastosowanie tych rozwiązań w praktyce oznaczałoby utrzymanie obecnego stanu rzeczy (*status quo*) w zakresie obserwowanej zmienności cech ważnych zarówno z konsumenckiego, jak i hodowlanego punktu widzenia.

Tak więc, podjęcie tego typu badań, mających na celu poszukiwanie genetycznych mechanizmów warunkujących zmienność cech użytkowych przy wykorzystaniu nowych technik analitycznych, wydaje się być zasadne.

4. Analiza genów markerowych warunkujących wysoką plenność u owiec w stadach polskich ras zachowawczych (autor: Grzegorz Smołucha)

Owce pełnią istotną rolę w nowoczesnej agrokulturze, a ich eksterier i fizjologia umożliwiają zastosowanie tego gatunku jako modelu do badań nad różnymi procesami fizjologicznymi u ssaków, np. reprodukcją. Cechy reprodukcyjne

są szczególnie ważne dla produkcji owczarskiej, gdyż decydują o opłacalności hodowli i z tego powodu są w centrum zainteresowania hodowców owiec na całym świecie (Mandon-Pépin i in., 2003; Davis, 2005; Safari i in., 2005). Cechy te charakteryzują się niską odziedziczalnością, a prowadzona w tym kierunku selekcja, oparta na wartościach fenotypowych jest bardzo powolna i mało wydajna. W celu poprawy płodności i plenności bardziej efektywna wydaje się być selekcja zwierząt oparta na genotypie (Snowder, 2008; Smołucha i in., 2012). Reprodukacja jest skomplikowanym procesem fizjologicznym, a cechy reprodukcyjne, takie jak liczba owulujących pęcherzyków jajnikowych i ilość jagniąt w miocie, mogą być genetycznie regulowane przez wiele genów o niewielkim efekcie (charakter poligeniczny), a czasami także przez pojedyncze geny o dużym efekcie fenotypowym (geny główne), zwane genami płodności (*Fec genes*) (Drouilhet i in., 2009). Obecnie, poprzez analizę próbek DNA, pochodzących od maciorek i tryków, na obecność wariantów genów zwiększających płodność oraz poprzez poznanie sposobu ich dziedziczenia można istotnie zwiększyć wskaźniki cech reprodukcyjnych owiec w stosunkowo krótkim czasie i niskim kosztem (Davis, 2005). Warto zauważyć, że hodowla prowadząca do optymalnej i stałej wielkości miotów powinna być bardziej pożądana niż próba znacznego ich zwiększenia (SanCristobal-Gaudy i in., 2001), a optymalny rozmiar miotu może się różnić pomiędzy owcami utrzymywanymi w różnych systemach produkcyjnych, klimacie, pochodzących z różnych ras oraz odmiennie żywionych.

W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono genom należącym do nadrodziny transformujących czynników wzrostu beta (ang. *Transforming growth factor β* ; TGF- β), w których zaobserwowano występowanie mutacji znacząco zwiększających poziom owulacji u owiec (Davis, 2005). Nadrodzina białek TGF- β , w skład której wchodzi czynniki wzrostu i różnicowania (GDF), białka morfogenetyczne kości (BMP), aktywina/inhibina oraz hormon antymüllerowski, jest złożona z ponad 35 białek (Carreira i in., 2014). Wiadomo, że niektóre białka z tej nadrodziny są ważnymi regulatorami wzrostu i rozwoju pęcherzyków jajnikowych u wielu gatunków zwierząt,

jednak szczegółowe ich funkcje są różne dla poszczególnych gatunków. Białka należące do nadrodziny transformujących czynników wzrostu beta odgrywają znaczącą rolę podczas embriogenezy u ssaków, płazów i owadów, jak również biorą udział w rozwoju kości, gojeniu ran, hematopoezie i wywoływaniu stanów zapalnych (Winnier i in., 1995; Hogan, 1996; Letterio i Roberts, 1998; Massague, 1998). Pełnią one również istotną rolę w procesach rozrodczych u ssaków, razem z czynnikami wzrostu, GDF9 i GDF9b (BMP15) (wykazującymi ekspresję w oocytach) (Laitinen i in., 1998; Aaltonen i in., 1999; Elvin i in., 2000) oraz receptorami BMP (podlegającymi ekspresji w jajnikach) (Shimasaki i in., 1999). Na specjalną uwagę zasługuje fakt, że wyżej wymienione czynniki wzrostu i różnicowania są produkowane przez oocyt, który z kolei nie tylko wpływa na prawidłowy rozwój pęcherzyków jajnikowych, ale także odgrywa kluczową rolę w regulacji liczby owulujących pęcherzyków jajnikowych w każdym cyklu. Szczególną uwagę naukowców zwróciły trzy geny, których produkty wpływały znacząco (poprzez różne mechanizmy) na liczbę owulujących pęcherzyków i liczbę jagniąt w miocie: gen receptora białka morfogenetycznego kości (ang. *bone morphogenetic protein receptor type; 1B-BMPRI1B*), nazywany też zamiennie *activin-like kinase 6 (ALK6)*, gen białka morfogenetycznego kości (ang. *bone morphogenetic protein; 15-BMP15*), znany również jako czynnik wzrostu i różnicowania 9B (ang. *growth differentiation factor; 9B-GDF9B*) oraz czynnik wzrostu i różnicowania 9 (ang. *growth differentiation factor; 9-GDF9*) (McNatty i in., 2001; Vacca i in., 2010). Mutacje występujące w tych genach mają różne efekty i wzorce dziedziczenia. Wszystkie mutacje zwiększają liczbę owulujących pęcherzyków jajnikowych u osobników heterozygotycznych, lecz niektóre z nich powodują bezpłodność u osobników homozygotycznych, których jajniki nie rozwijają się prawidłowo.

Celem badań prowadzonych w ramach projektu jest analiza genów związanych z płodnością i plennością owiec objętych programem ochrony zasobów genetycznych. Badania obejmą geny takie, jak: *BMPRI1B* (receptor białka morfogenetycznego kości), *BMP-15* (białko morfogenetyczne kości 15) i *GDF-9* (czynnik różnico-

wania wzrostu 9). *BMP-15* (*Bone Morphogenetic Protein-15*) był pierwszym zidentyfikowanym genem, który powiązano z wysoką plennością owiec ras Romney i Belclare. Białko BMP-15 jest kodowane przez pojedynczy gen zlokalizowany na chromosomie X u owiec, bydła, ludzi (Dube i in., 1998; Aaltonen i in., 1999), myszy (Dube i in., 1998; Laitinen i in., 1998). U owiec gen *BMP-15* składa się z 2 eksonów: I ekson o długości 325 pz, II ekson o długości 856 pz, oddzielonych od siebie intronem o długości ok. 5,4 kpz (Galloway i in., 2000). Badania przeprowadzone przez Galloway i in. (2000) metodą *northern-blot* na różnych tkankach pochodzących od owiec dowiodły występowania 2,7 kpz transkryptu tylko w tkankach pochodzących z jajników. Dalsze badania prowadzone przez Galloway i in. (2000) w oparciu o metodę hybrydyzacji *in situ* ujawniły, że transkrypt genu *BMP-15* znajduje się wyłącznie w oocytach, a do ekspresji dochodzi już w stadium pęcherzyków pierwotnych. Badania przeprowadzone przez Otsuka i in. (2000 a, b, 2001; Otsuka i Shimasaki, 2002) na rekombinowanym ludzkim genie *BMP-15* wykazały, że produkt genu *BMP-15* w komórkach ziarnistych szczura odpowiada za ważne biologiczne funkcje, takie jak: stymulowanie mitozy, proliferacja oraz działa silnie stymulująco na ekspresję mRNA *KITLG* (*Kit ligand*). Z kolei, ekspresja *KITLG* jest niezbędna do wczesnego wzrostu pęcherzyka jajnikowego.

Zmiany w sekwencji nukleotydowej w genie *BMP15* zostały po raz pierwszy zaobserwowane u owiec ras Romney w Nowej Zelandii. Występują one również u innych ras owiec, jak np. Belclare i Cambrige w Irlandii i Wielkiej Brytanii (Davis, 2005). Dotychczas dziewięć niezależnych od siebie mutacji w genie *BMP-15* zostało powiązanych ze zwiększoną liczbą owulujących pęcherzyków jajnikowych u heterozygotycznych owiec oraz bezpłodnością u homozygot (Galloway i in., 2000; Hanrahan i in., 2004; Bodin i in., 2007). Owce heterozygotyczne pod względem allelu *FecX*, noszące mutację *FecXI* (Inverdale, V31D), *FecXH* (Hanna, Q23Ter), *FecXB* (Belclare, S99I), *FecXG* (Q239Ter) czy *FecXL* (Lacaune, C53Y), charakteryzują się jednym lub dwoma dodatkowymi pęcherzykami owulacyjnymi w porównaniu z osobnikami nie

posiadającymi tej mutacji. Mutacje występujące w allelach *FecXI*, *FecXL*, *FecXB* powodowały niekonserwatywną substytucję w sekwencji aminokwasów, odpowiednio w pozycji 31, 53 i 99 dojrzałej proteiny BMP-15. Osobniki posiadające allele *FecXI* i *FecB* wykazują taki sam fenotyp jak owce z allelami *FecXG* i *FecXH*, pomimo że mutacje w allelach *FecXG* i *FecXH* wprowadzają kodon stop w pozycji 239 lub 291 niedojrzałego białka BMP-15 i oczywiście nierówność w produkcji biologicznie aktywnych form tego białka (Bodin i in., 2007). W kodującym regionie genu *BMP-15* tranzycja G>A (pozycja 1196 w ORF) odpowiada za powstanie allelu *FecXL*. U homozygot *FecXL / FecXL*, podobnie jak u owiec z allelem Inverdale, pęcherzyki jajnikowe zatrzymywały się na pierwotnym stadium rozwoju. Szóstą mutacją w genie *BMP15* jest 17-nukleotydowa delecja w 2 eksonie (allel *FecXR*), która prowadzi do zmiany sekwencji aminokwasów i powstania kodonu stop (Martinez-Royo i in., 2008). Ostatnio udokumentowanymi mutacjami w genie *BMP-15* są mutacje *FecXGr* i *FecXO* zlokalizowane u owiec ras French Givette i owcy olkuskiej oraz *FecXBar* zidentyfikowana u owiec ras Tunisian Barbarine. Mutacje te powodują zwiększenie płodności i plenności homozygot (*FecXGr* i *FecXO*), inaczej niż w przypadku pozostałych 7 mutacji, gdzie homozygoty są bezpłodne, a heterozygoty charakteryzują się zwiększoną plennością i płodnością (Demars i in., 2013; Lassoued i in., 2017). W odróżnieniu od *BMP-15*, gen *GDF9* (*growth differentiation factor 9*) jest autosomalnym genem zlokalizowanym u owiec i ludzi na chromosomie 5. (Notter, 2008), u myszy na chromosomie 11. (McPherron i Lee, 1993). Owczy gen składa się z około 2,5 pz i zawiera dwa eksony (I-397 pz, II-968 pz) oddzielone od siebie pojedynczym intronem o długości 1126 pz. U owiec ekspresja genu *GDF9* zachodzi w oocytach (Bodensteiner i in., 2000). Liczne badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych wykazały, że obecność transkryptu *GDF9* jest niezbędna do prawidłowego rozwoju pęcherzyka pierwotnego oraz prawidłowego rozwoju i różnicowania komórek ziarnistych, a także formowania wzgórka jajonośnego (Gui i Joyce, 2005). Badania przeprowadzone *in vitro* przy użyciu rekombinowanego białka GDF-9 wyjaśniły ważną biologiczną

rolę tego peptydu we wzroście i rozwoju pęcherzyków jajnikowych we wszystkich stadiach folikulogenezy. GDF-9 blokuje ekspresję kit ligandu oraz blokuje indukowaną FSH produkcję progesteronu i estradiolu poprzez hamowanie zależnej od FSH ekspresji receptorów dla LH (Vitt i in., 2000; Lin i in., 2003). Badania przeprowadzone u owiec przez Hanrahan i in. (2004) dowiodły istnienia ośmiu mutacji punktowych w genie *GDF9*. G2, G3, G5 to mutacje ciche, nie powodujące zmian aminokwasu w sekwencji aminokwasowej białka. Pozostałe wpływały na sekwencję aminokwasów (Hanrahan i in., 2004). Mutacja G8 (FecGH) prowadzi do substytucji seryny przez fenyloalaninę w pozycji 77 dojrzałego peptydu GDF9 (Hanrahan i in., 2004). U heterozygotycznych owiec zwiększa ona poziom owulacji, a u homozygotycznych powoduje bezpłodność. Badania przeprowadzone nad islandzkimi wysoko plennymi owcami rasy Thoka dowiodły istnienia mutacji w locus *GDF-9* (Nicol i in., 2009). Mutacja oznaczona jako FecGT powoduje zamianę aminokwasu seryny na argininę w dojrzałym białku GDF-9 (S427R). U heterozygot skutkuje ona zwiększeniem plenności, natomiast u homozygot objawia się bezpłodnością (Pramod i in., 2013). Mutacja w genie *GDF-9* została również zidentyfikowana u brazylijskich owiec Santa Ines i oznaczona jako FecGE (*Embrapa mutation*). Jest to mutacja punktowa zmieniająca aminokwas w dojrzałym białku GDF-9 (F345C) (Silva i in., 2011). Była to pierwsza odkryta mutacja, która nie powodowała bezpłodności u homozygot. Homozygoty z nią charakteryzowały się zwiększoną płodnością w porównaniu z heterozygotami (Demars i in., 2013). W genie *GDF-9* zidentyfikowano kolejną mutację G1111A-V371M występującą u białej owcy norweskiej (Våge i in., 2013). Była ona wcześniej opisana przez Hanrahan i in. (2004) jako G7, zdiagnozowana u owiec ras Cambridge i Belclare i nie wykazywała asocjacji z plennością owiec (Våge i in., 2013). *BMPR1B* (*bone morphogenetic protein 1B receptor*) jest genem autosomalnym zlokalizowanym u owcy na chromosomie 6. (Montgomery i in., 1994) pomiędzy genami *SPPI* i *EGF*. Region pomiędzy *SPPI* i *EGF* u owiec jest homologiczny do fragmentu ludzkiego chromosomu 4q22-23 (Montgomery i in., 1993), który zawiera gen *BMPR1B*.

BMPR1B został zlokalizowany u myszy na chromosomie 3., u świni na chromosomie 8., a u bydła na chromosomie 6. *BMPR1B* u owiec składa się z 10 egzonów i koduje białko o długości 502 aminokwasów. Podlega on ekspresji w mózgu, mięśniach szkieletowych, nerkach (Wilson i in., 2001), jajniku, rdzeniu kręgowym, przysadce mózgowej, kościach, macicy, podwzgórz, nerkach, jajowodach (Yang i in., 2009). Mutacja zidentyfikowana w genie *BMPR1B*, powiązany z wysoką plennością owiec, występuje w eksonie 8 w kodującym regionie genu (c.746 A→G) w wysoko konserwatywnej międzykomórkowej sygnałnej domenie kinaz. Mutacja ta powoduje zamianę aminokwasu glutaminy na argininę (Q249R) (Souza i in., 2001; Chen i in., 2015 a).

W ramach przeprowadzonych dotychczas badań poddano analizie 64 owce rasy polska owca górską, 72 owce rasy cakiel podhalański oraz 53 owce rasy wrzosówka. Analizy zostały przeprowadzone pod kątem wykrycia obecności mutacji w genach *BMPR1B*, *BMP-15* oraz *GDF-9*. Uzyskane wyniki analiz nie wykazały obecności zmutowanego allelu w genie *BMPR1B*, co może świadczyć o braku tej mutacji u owiec polskich ras. W toku dalszej analizy wybranych genów przebadano pod kątem obecności mutacji w genach *BMP-15* (exon 2) oraz *GDF-9* – 72 owce rasy cakiel podhalański oraz 53 owce rasy wrzosówka. U dwóch ras – wrzosówki i cakla podhalańskiego – zidentyfikowano mutację w genie *BMP-15* c.755T>C (g.6063- rs55628000) oraz dwie mutacje c.978A>G i c.994G>A w genie *GDF-9*. Wykryte w niniejszej pracy polimorfizmy zachęcają do dalszych badań mających na celu identyfikację markerów plenności w loci *BMP-15* i *GDF-9* oraz do poszukiwań innych genów mogących mieć wpływ na plenność owiec, a próba asocjacji wykrytych polimorfizmów z cechami reprodukcyjnymi może być istotna dla poprawy opłacalności produkcji owczarskiej.

5. Charakterystyka parametrów genetycznych cech produkcyjnych i funkcjonalnych populacji ras objętych programami ochrony zasobów genetycznych (autorzy: Magdalena Szyndler-Nędza, Piotr Topolski, Jan Knapik)

Podstawowym celem programów ochro-

ny zasobów genetycznych jest utrzymanie w chronionych populacjach zwierząt gospodarskich istniejącej odrębności genetycznej i zmienności wewnątrz rasowej. W hodowli i selekcji zwierząt ras zachowawczych ważne jest, by cechy produkcyjne, takie jak: przyrost dzienny, wykorzystanie paszy czy zawartość mięsa w tuszy (w przypadku świń i bydła mięsnego, owiec ras mięsnych), wydajność mleczna (w przypadku bydła mlecznego i owiec) nie ulegały doskonaleniu i dzięki temu zachowały swoje typowe dla ras, bardzo dobre parametry jakościowe. Cechy reprodukcyjne natomiast, takie jak ilość urodzonego i odchowywanego potomstwa oraz cechy funkcjonalne, jak długowieczność, ilość laktacji to jedyne cechy, które w ramach programów ochrony mogą być doskonalone. Na wyżej wymienione cechy produkcyjne zwierząt mają wpływ przede wszystkim – genotyp zwierzęcia oraz czynniki środowiskowe. Dlatego też, aby selekcja prowadzona w populacjach ras rodzimych przyniosła odpowiednie rezultaty, należy określić parametry genetyczne poszczególnych cech, które dokładnie odzwierciedlają wartość tych populacji. Należy zatem oszacować współczynniki odziedziczalności dla cech ujętych w indeksach selekcyjnych, jak i cech związanych z użytkowością rozplodową czy też funkcjonalnych.

5.1. Bydło i konie

Znajomość parametrów genetycznych (odziedziczalności cech i korelacji między cechami) ma kluczowe znaczenie w doskonaleniu populacji bydła mlecznego, realizowanego w oparciu o metody wykorzystujące założenia genetyki cech ilościowych. Pozwala m. in. na przewidywanie dynamiki genetycznych zmian zachodzących w populacjach bydła, a tym samym – ocenę i prognozowanie skuteczności pracy hodowlanej. W przypadku bydła ras mlecznych najbardziej interesującą hodowców grupą cech są cechy produkcyjne i funkcjonalne.

Większość opublikowanych w literaturze współczynników odziedziczalności dla cech produkcyjnych (wydajność mleka, tłuszczu i białka) charakteryzuje się zbliżonym rzędem wielkości ($h^2 \approx 0,3$) i w zależności od rasy bydła, a także różnic w strukturze poszczególnych populacji mieści się na ogół w przedziale od 0,27 do 3,32

(Van Tassell i in., 1999; Byeong-Woo K i in., 2009; Missanjo i in., 2013; Żarnecki i in., 2016). Podobne wielkości współczynników odziedziczalności ($h^2 \approx 0,3$) są opublikowane dla cech związanych ze zdrowotnością wymienia (Missanjo i in., 2013; Żarnecki i in., 2016). Z kolei, cechy pokroju należą do cech umiarkowanie i średnio odziedziczalnych, a oszacowane współczynniki odziedziczalności dla tej grupy cech wykazują duże zróżnicowanie i wynoszą od 0,1 dla cech związanych z budową nóg i racic do 0,6 dla kalibru (Misztal i in., 1992; Jagusiak i in., 2009; Żarnecki i in., 2016). Cechy typu i budowy są często wysoko genetycznie skorelowane z innymi cechami funkcjonalnymi, dlatego też – w przypadku ras poddawanych intensywnemu doskonaleniu – stały się cennym narzędziem tzw. selekcji pośredniej na płodność, długowieczność oraz zdrowotność. Zależność ta jest tym bardziej istotna, że dwie pierwsze z wymienionych grup cech charakteryzują się umiarkowaną odziedziczalnością i w związku z tym – adekwatnie wolniejszą reakcją na selekcję bezpośrednią. Odziedziczalności cech płodności prezentowane w literaturze są na ogół niskie, a oszacowane współczynniki h^2 przyjmują wartości od 0,02 do 0,08 (Ranberg i in., 2003; Jagusiak, 2005). Umiarkowanym poziomem odziedziczalności charakteryzują się także cechy związane z długością okresu użytkowania krów (długowieczność, przeżywalność). Oszacowane w populacjach bydła współczynniki odziedziczalności dla tych cech mieszczą się najczęściej w przedziale od 0,05 do 0,19 (Vollema i Groen, 1996; Pritchard i in., 2013; Żarnecki i in., 2016).

W krajowej literaturze brak jest opracowań poświęconych parametrom genetycznym w populacjach bydła objętych programem ochrony zasobów genetycznych. Tymczasem, w Polsce zgromadzono bazę danych obejmującą około 10 000 rekordów krów należących do tych ras, co umożliwia podjęcie badań nad oszacowaniem parametrów genetycznych cech produkcyjnych i części cech funkcjonalnych w oparciu o rekomendowane metody badawcze.

Opublikowane w literaturze parametry genetyczne dla różnych ras koni dotyczą głównie cech związanych z eksterierem i użytkowością. Cechy budowy zewnętrznej koni są ni-

sko lub średnio odziedziczalne i wykazują dość duże zróżnicowanie; oszacowane współczynniki odziedziczalności dla cech pokroju koni wynoszą od 0,08 do 0,55 (Rustin i in., 2009; Sole i in., 2014). Podobnie, duże zróżnicowanie w zakresie wielkości oszacowanych współczynników odziedziczalności występuje w przypadku cech związanych z różnie definiowanymi próbami dzielności. Współczynniki h^2 dla tej grupy cech mieszczą się na ogół w przedziale od 0,05 do 0,3 (Ricard i Touvais, 2007; Árnason, 2009). Zgromadzone w krajowych bazach dane, dotyczące niektórych cech pokroju i ocenianych w skali punktowej cech związanych z użytkowością koni, pozwalają na prawidłowe oszacowanie parametrów genetycznych w zakresie tych cech w przypadku najliczniejszych ras objętych w Polsce programem ochrony zasobów genetycznych.

5.2. Świnie

Wartość hodowlaną świń określa się między innymi w oparciu o wyniki pochodzące z oceny użytkowości tucznej i rzeźnej dokonywanej przyżyciowo (przyrost dzienny i procentowa zawartość mięsa w tuszy) i użytkowości rozplodowej. Oszacowania parametrów genetycznych dla ras świń objętych programami hodowlanymi dokonało wielu autorów (Różycki i in., 1998; Tänavots i in., 2002; Serenius i in., 2004; Wijk i in., 2005; Gilbert i in., 2007; Cai i in., 2008; Szyndler-Nędza i in., 2010). Wykazano, że najwyższe wartości współczynników odziedziczalności (gwarantujące szybszy postęp hodowlany w danej cesze) oszacowano przede wszystkim dla grubości słoniny grzbietowej, przyrostu dziennego oraz procentowej zawartości mięsa w tuszy. W zależności od rasy świń wartości współczynników odziedziczalności dla grubości słoniny wahały się od około $h^2=0,200$ do $h^2=0,77$ (Szyndler-Nędza i in., 2010; Tänavots i in., 2002). W przypadku przyrostu dziennego wartości tych parametrów wynosiły od $h^2=0,174$ do $h^2=0,576$ (Różycki i in., 1998; Szyndler-Nędza i in., 2010), a dla procentowej zawartości mięsa w tuszy od $h^2=0,242$ do $h^2=0,73$ (Szyndler-Nędza i in., 2010; Tänavots i in., 2002). Niższe wartości współczynników odziedziczalności oszacowano dla pomiarów mięśnia najdłuższego grzbietu. Dla powierzchni „oka” połędwicy wartości tego parametru wahały

się od $h^2=0,13$ do $h^2=0,57$ (Serenius i in., 2004; Cai i in., 2008), a dla wysokości mięśnia najdłuższego grzbietu (P4M) od $h^2=0,050$ do $h^2=0,298$ (Szyndler-Nędza i in., 2010).

Cechy związane z użytkowością rozplodową (ilość prosiąt urodzonych i odchowanych w miocie od lochy) charakteryzują się natomiast bardzo niskimi wartościami odziedziczalności – od $h^2=0,006$ do $h^2=0,1$ (Su i in., 2007; Distl, 2007). Dlatego, realizowany postęp genetyczny w tych cechach był, jak dotąd, bardzo powolny. Określono również odziedziczalność dla masy prosiąt urodzonych, uzyskując także niskie wartości, od $h^2=0,06$ do $h^2=0,10$ (Damgaard i in., 2003; Canario i in., 2010; Bergsma i in., 2008). Podobnie niskie wartości odziedziczalności oszacowano dla długowieczności loch, od $h^2=0,05$ do $h^2=0,10$ (Serenius i Stadler, 2004). Nieco wyższe wartości tego parametru uzyskano dla pobrania paszy przez lochy w czasie laktacji ($h^2=0,14$) (Gilbert i in., 2012) oraz dla wydajności laktacji loch ($h^2=0,12$) i związanego z tym przyrostu miotu ($h^2=0,18$) (Bergsma i in., 2008). Podjęto również próbę oszacowania wartości współczynnika powtarzalności dla składu siary i mleka loch w trzech kolejnych laktacjach, uzyskując najwyższą wartość tego parametru dla zawartości laktozy ($r=0,18$), następnie suchej masy ($r=0,17$) i białka ($r=0,16$) w siarze loch ras pbz i wbp (Szyndler-Nędza, 2016).

Jak dotąd, parametry genetyczne były szacowane przede wszystkim dla wysokoprodukcyjnych ras świń objętych krajowymi programami hodowlanymi. Jak wykazano w powyższych badaniach, wpływ na wartość współczynników odziedziczalności danej cechy miała między innymi rasa zwierząt. Dlatego w przypadku ras rodzimych (złotnicka biała, złotnicka pstra, puławska) bardzo ważne jest oszacowanie wartości tych parametrów dla każdej z tych ras. Poznanie współczynników odziedziczalności pozwoli na korektę indeksów selekcyjnych w rasach rodzimych, a znajomość dokładnie oszacowanej wartości hodowlanej pozwoli na optymalny dobór zwierząt do kojarzeń, tak by nie doprowadzić do nadmiernych zmian poziomu cech użytkowych. Przyczyni się również do utrzymania istniejącej odrębności genetycznej i zmienności wewnątrz rasowej zwierząt objętych programami ochrony.

W ramach projektu NCBIr – BIOSTRATEG przystąpiono do badań, mających na celu oszacowanie parametrów genetycznych przede wszystkim dla cech uwzględnionych w indeksach selekcyjnych świń ras objętych programami ochrony oraz dla cech związanych z reprodukcją i funkcjonalnych. W bazie świń zebrano dane: z oceny przyżyciowej dla 4465 loszek i knurków ras złotnickich i puławskiej, z oceny rozplodowej dla 2466 loch tych ras oraz poddano ocenie poubojowej w SKURTC h 151 szt. rasy puławskiej i 58

szt. rasy złotnickiej białej. Ze względu na małą liczebność zwierząt aktualnie poddanych ocenie w każdej z ras, dołączono do baz dane z oceny przyżyciowej i rozplodowej zwierząt z lat wcześniejszych. W rasie złotnickiej białej i puławskiej dołączono dane od 2010 r., a w rasie złotnickiej pstrej od 2006. Łącznie w bazie danych znalazły się dane z oceny przyżyciowej 12 346 loszek i kurów i 6512 loch ras rodzimych.

W tabeli 1 przedstawiono liczebności zwierząt w poszczególnych rasach.

Tabela 1. Liczba zwierząt poszczególnych ras świń dla których zgromadzono dane oceny przyżyciowej
Table 1. Number of animals of particular pig breeds for which the data of in live evaluation were collected

Rasa świń <i>Pig breed</i>	Liczba zwierząt ocenionych przyżyciowo <i>Number of animals evaluated in live</i>	Liczba loch objętych kontrolą użytkowości rozplodowej <i>Number of sows under control of reproductive performance</i>
Złotnicka biała – <i>Złotnicka White</i>	1083	1907
Puławska	10165	2403
Złotnicka pstra – <i>Złotnicka Spotted</i>	1098	2202

Dane zweryfikowano pod kątem ich prawdziwości, zgodności danych i pokrewieństwa. Następnie, przeprowadzono szczegółową analizę fenotypową poszczególnych cech użytkowych w celu określenia ich właściwości, co wraz z charakterystyką struktury populacji danej rasy pozwoliło na ocenę zakresu cech możliwych do uwzględnienia w badaniach oraz wybór właściwej metody szacowania parametrów genetycznych. Do szacowania parametrów genetycznych wybrano następujące cechy:

- wynikające z oceny tucznej i rzeźnej dokonywanej przyżyciowo: masa ciała [kg], grubość słoniny grzbietowej w punkcie P2 [mm], grubość słoniny grzbietowej w punkcie P4 [mm], średnia grubość słoniny grzbietowej [mm], wysokość mięśnia najdłuższego grzbietu w punkcie P4 (P4M) [mm], przyrost dzienny [g/dzień], procent mięsa w tuszy [%];
- wynikające z oceny użytkowości rozplodowej: liczba miotów, wiek pierwszego oproszenia [dni], średnia liczba prosiąt żywo urodzonych [szt.], średnia liczba prosiąt w 21. dniu życia [szt.], procent odchowanych prosiąt [%], średni okres

miedzymiotu [dni], długość życia do ostatniego oproszenia [dni].

Parametry genetyczne w tym gatunku będą szacowane osobno dla każdej rasy rodzimej, z uwzględnieniem płci. Ze względu na małe liczebności danych z oceny przyżyciowej dla knurów ras złotnickich w tych dwóch rasach parametry genetyczne będą szacowane tylko dla loszek. W przypadku rasy puławskiej w obliczeniach uwzględnione będą zarówno knury, jak i loszki.

5.3. Owce

Ocena wartości hodowlanej owiec jest dokonywana na podstawie oszacowanych indeksów selekcyjnych. Szacowania te są wykonywane w oparciu o dane z kontroli użytkowości. Cechy uwzględniane w ocenie wartości hodowlanej owiec są cechami przyżyciowymi. Realizowany Program Hodowlany zakłada podział populacji owiec na rasy ojcowskie (mięsne) i mateczne. W obrębie tych ostatnich dokonano podziału na trzy grupy: merynosy, owce nizinne, owce długowłniste.

Wyniki uzyskane w wielu badaniach wskazują, że oszacowania współczynników odziedziczalności charakteryzują się znacznym

zróznicowaniem (0,03–0,31). Jego źródłem może być czynnik rasowy (Rao i Notter, 2000; Tosh i Kemp, 1994). Najwyższą wartość odziedziczalności całkowitej (0,31) uzyskali Dobek i in. (2004), analizując masę ciała jagniąt w wieku 28 dni w rasach: wielkopolskiej, merynosa polskiego i wschodniofryzyjskiej. Najniższą wartość tego wskaźnika (0,03) stwierdzili Boujenane i Kansari (2002) u 30-dniowych jagniąt rasy Timahdite. U jagniąt w wieku 50 i 56 dni Maniatis i Pollott (2003) oraz Tosh i Kemp (1994) oszacowali natomiast współczynniki odziedziczalności odpowiednio 0,05–0,18 i 0,13. Na podobnym poziomie współczynniki odziedziczalności dla masy ciała w 56. dniu oszacował Piwczyński (2009) dla merynosa polskiego. Wyniki badań innych autorów, jak np. Maria i in. (1993), a także Nesar i in. (2000) wskazują na to, że odziedziczalność masy ciała zmienia się w zależności od wieku, dla jakiego była szacowana.

Podawane w literaturze odziedziczalności przyrostów dobowych masy ciała jagniąt różnią się znacznie od siebie. Czynnikiem różnicującymi są m. innymi: rasa, liczebność, przyjęte do szacowania modele, płeć, typ urodzenia, przedziały wiekowe, długość okresu odchowu przy matkach. Na przykład, Ślósarz (2004) u białogłowej owcy mięsnej dla przyrostu w okresie od 2. do 30. dnia podaje wartość $h^2=0,098$ oraz 0,217 dla przyrostów w okresie 30–70 dnia życia jagniąt. Wartości h^2 na podobnym poziomie uzyskali Martin i in. (1980) oraz Ricordeau i in. (1982).

W stadach matecznych aktywnej populacji owiec stosowany w Polsce indeks selekcyjny oprócz masy ciała w 56. dniu zawiera także plenność życiową matki. W przypadku cechy plenności owiec, oprócz wcześniej wymienionych czynników, które wpływają na wielkość oszacowanych współczynników odziedziczalności, należy dodać ilość wykotów danej owcy. Podawane w literaturze odziedziczalności liczby urodzonych jagniąt wynoszą od 0,00 (Matos i in., 1997) do 0,47 (Abdulkhalig i in., 1989).

W aktualnie obowiązujących indeksach selekcyjnych stosowanych w hodowli krajowej populacji owiec (Szewczyk, 2003) przyjęto współczynniki odziedziczalności dla poszczególnych cech, dotyczących przyrostów dobowych od

10. do 30. oraz od 30. do 56. dnia życia jagnięcia (stada ojcowskie) – odpowiednio $h^2=0,236$ i 0,173, po wyeliminowaniu różnic pomiędzy rasami. W stadach matecznych i plennych (masa ciała w 56. dniu życia jagnięcia oraz plenność życiowa owcy-matki) przyjęto natomiast odziedziczalności oszacowane dla rasy merynos – odpowiednio $h^2=0,265$ i 0,111. Na podobnym poziomie współczynniki odziedziczalności dla plenności oszacował Piwczyński (2009) dla merynosa polskiego. Są one stosowane dla wszystkich ras w stadach matecznych oraz plennych. Rozwiązanie takie przyjęto z konieczności, ze względu na zbyt małe liczebności materiału obserwacyjnego dla różnych ras.

W latach 2004–2005 zapoczątkowano ocenę wartości hodowlanej owiec metodą BLUP AM. Na materiale zgromadzonym z tej oceny w 2010 r. Szewczyk (materiały niepublikowane) podjął próbę oszacowania współczynników odziedziczalności (dla cech indeksowych) oddzielnie dla czterech najbardziej licznych ras ojcowskich oraz oddzielnie dla ras matecznych według podziału na: rasę merynos polski, rasy nizinne, rasy długowłniste. Tak oszacowane współczynniki odziedziczalności wynoszą dla cechy masa ciała w 56. dniu od 0,1182 dla merynosa do 0,302 dla grupy owiec długowłnistych, a dla plenności od 0,1167 dla grupy owiec długowłnistych do 0,2702 dla grupy owiec nizinnych.

Z ras ojcowskich programem ochrony zasobów genetycznych objęte są tylko owce rasy czarnogłówka. Oszacowane dla tej rasy przez Szewczyka współczynniki odziedziczalności dla masy ciała w 56. dniu, przyrostów dobowych od 10. do 30. dnia oraz od 30. do 56. dnia wynoszą odpowiednio: 0,1904, 0,0997, 0,2261.

Znajdujące obecnie zastosowanie w hodowli krajowej populacji owiec parametry genetyczne były szacowane dla grup rasowych. Wyjątkiem są owce rasy merynos oraz czarnogłówka. Oszacowania były przeprowadzane dla całej populacji, tzn. bez wydzielenia ras i zwierząt objętych programami hodowli zachowawczej. Z informacji literaturowych wynika, że na wielkość współczynników odziedziczalności wpływa m. in. czynnik rasowy.

Posiadanie informacji o parametrach genetycznych danej populacji (współczynniki

odziedziczalności) jest niezbędne do opracowania dobrego programu hodowlanego. Poznanie wartości tych parametrów pozwoli na korektę indeksów selekcyjnych dla ras rodzimych (cakiel podhalański, merynos odmiany barwnej, merynos polski w starym typie, owca czarnogłówka, owca kamieniecka, owca korideil, owca olkuska, owca pogórza, owca pomorska, owca świniarka, owca uhruska, owca wielkopolska, owca wrzosówka, owca żelaźnieńska, polska owca górska odmiany barwnej, owca pogórza) i utrzymanie cech produkcyjnych na niezmiennym poziomie oraz poprawę cech reprodukcyjnych i funkcjonalnych. Umożliwi to także działania, mające na celu utrzymanie istniejącej odrębności genetycznej oraz zmienności wewnątrz rasowej ww. ras owiec.

W ramach projektu NCBiR – BIOSTRATEG szacowanie parametrów genetycznych cech produkcyjnych i funkcjonalnych owiec zostanie przeprowadzone w oparciu o dane zgromadzone w latach 2010–2015. Liczebności zwierząt z poszczególnych ras przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Liczba zwierząt poszczególnych ras owiec dla których zgromadzono dane oceny użyteczności
 Table 2. Number of animals of particular sheep breeds for which the data of performance evaluation were collected

Rasa Breed	Liczba rekordów Number of records	Liczba jagniąt Number of lambs	Liczba maciurek Number of ewes	Liczba tryczków Number of rams	Liczba matek Number of dams
Owca wielkopolska – <i>Wielkopolska sheep</i>	35040	35548	17129	17819	11372
Owca korideil – <i>Corriedale sheep</i>	7096	8086	4144	3942	2134
Owca pomorska – <i>Pomeranian sheep</i>	47798	49732	24321	25211	12812
Owca kamieniecka – <i>Kamieniecka sheep</i>	19567	17577	8753	8824	5779
Owca pogórza – <i>Pogórze sheep</i>	905	1146	629	517	905
Owca wrzosówka – <i>Wrzosówka sheep</i>	48745	48065	24790	23275	12045
Owca świniarka – <i>Świniarka sheep</i>	7759	7574	3846	3728	2311
Polska owca górska odm. barwna <i>Coloured Polish Mountain sheep</i>	7399	9002	4785	4217	2036
Owca olkuska – <i>Olkuska sheep</i>	6425	7269	3643	3625	2225
Owca czarnogłówka – <i>Blackheaded sheep</i>	2608	2910	1489	1421	2608
Merynos barwny – <i>Coloured Merino</i>	2450	2188	1089	1097	904
Owca uhruska – <i>Uhruska sheep</i>	33502	32936	16497	16429	9202
Owca żelaźnieńska – <i>Żelaźnieńska sheep</i>	6092	7040	3498	3542	1901
Merynos polski w starym typie <i>Old-type Polish Merino</i>	32855	26466	13461	13005	10105
Cakiel podhalański – <i>Podhale Zackel</i>	36730	43449	23226	20223	10167

Na podstawie szczegółowej analizy poszczególnych cech użytkowych oraz charakterystyki struktury populacji danej rasy owiec wybrano do szacowania parametrów genetycznych następujące cechy:

- Od osobników płci żeńskiej (matek) uży-

ską się wyniki użyteczności rozplodowej, w tym: ilość urodzonych i odchowanych jagniąt [szt.], ilość miotów [szt.], ilość sezonów [szt.], wiek pierwszego wykotu [dni], długość życia [dni], plenność życiową [%].;

- Dla tryczków i maciorek w stadach ojcowskich (czarnogłówka) uzyska się wyniki użytkowości własnej, w tym: masę ciała w wieku 10 dni [kg], masę ciała w wieku 30 dni [kg], masę ciała w wieku 56 dni [kg], przyrosty dobowe masy ciała od 10. do 30. dnia życia jagnięcia [g], przyrosty dobowe masy ciała od 30. do 56. dnia życia jagnięcia [g];
- Dla tryczków i maciorek w stadach matczynych (pozostałe z wymienionych wcześniej ras owiec) uzyska się wyniki użytkowości własnej: masę ciała w wieku 56 dni [kg], wyniki użytkowości rozplodowej – jak wyżej.

Dla powyższych gatunków (świnie, owce) zostanie także przeprowadzona ocena cech tucznych i rzeźnych dokonana po uboju w stacji kontroli (SKURTC_h i SOT), gdzie zostaną pozyskane dane odpowiednio loszek i tryczków niektórych ras objętych programami ochrony świń i owiec. Ilość danych (liczby zwierząt) poddanych ocenie poubojowej będzie wprawdzie stosunkowo niewielka, pozwoli jednak na oszacowanie części parametrów fenotypo-

wych charakterystycznych dla tych ras.

Podsumowanie

W ramach zadań realizowanych w obrębie projektu BIOSTRATEG podjęliśmy się zbadania szeregu zagadnień z dziedziny genetyki i genomiki u zwierząt polskich ras zachowawczych. Badania te dotyczą najistotniejszych z punktu widzenia hodowli zachowawczej czynników, jakimi są: zmienność genetyczna, mechanizmy kształtowania pożądaných cech fenotypowych oraz wzajemne relacje pomiędzy cechami warunkujące możliwość prowadzenia pracy hodowanej bez zagrożenia dla poziomu chronionych cech funkcjonalnych.

Otrzymane wyniki pozwolą na lepszą ochronę puli genowych chronionych populacji oraz lepsze poznanie wariantów genów odpowiedzialnych za rasowo-specyficzne walory fenotypowe.

Wyniki tych kompleksowych badań dadzą także podstawy dla lepszego zarządzania populacjami zachowawczymi oraz dostarczą szerokiego materiału porównawczego, umożliwiającego identyfikację genetycznego podłoża cennych cech funkcjonalnych chronionych ras.

Literatura

- Aaltonen J., Laitinen M.P., Vuojolainen K., Jaatinen R., Horelli-Kuitunen N., Seppä L., Louhio H., Tuuri T., Sjöberg J., Bützow R., Hovatta O., Dale L., Ritvos O. (1999). Human growth differentiation factor 9 (GDF-9) and its novel homolog GDF-9B are expressed in oocytes during early folliculogenesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84 (8): 2744–2750.
- Abdulkhaliq A.M., Harvey W.R., Parker C.F. (1989). Genetic parameters for ewe productivity traits in the Columbia, Suffolk and Targhee breeds. *J. Anim. Sci.*, 67 (12): 3250–3257.
- Árnason T. (2009). Genetic studies on conformation and performance of icelandic toelter horses. *Acta Agric. Scand.*, 34: 409–427.
- Bergsma R., Kanis E., Verstegen M.W., Knol E.F. (2008). Genetic parameters and predicted selection results for maternal traits related to lactation efficiency in sows. *J. Anim. Sci.*, 86 (5): 1067–1080.
- Bodensteiner K.J., McNatty K.P., Moeller C.L., Sawyer H.R. (2000). Expression of growth differentiation factor 9 in the ovaries of fetal sheep homozygous or heterozygous for the Inverdale prolificacy gene (FecX(I)). *Biol. Reprod.*, 62 (6): 1479–1485.
- Bodin L., Di Pasquale E., Fabre S., Bontoux M., Monget P., Persani L., Mulsant P. (2007). A novel mutation in the bone morphogenetic protein 15 gene causing defective protein secretion is associated with both increased ovulation rate and sterility in Lacaune sheep. *Endocrinology*, 148: 393–400.
- Boujenane I., Kansari J. (2002). Estimates of (co)variances due to direct and maternal effects for body weights in Timahdite sheep. *Anim. Sci.*, 74: 409–414.
- Broom D.M., Galindo F.A., Murgueitio E. (2013). Sustainable, efficient livestock production with high biodiversity and good welfare for animals. *Proc. Royal Society B: Biol. Sci.*, 280 (1771): 2013–2025.
- Byeong-Woo K., Deukhwan L., Jin-Tae J., Jung-Gyu L. (2009). Estimation of genetic parameters for milk production traits using a random regression test-day model in Holstein cows in Korea. *J. Anim. Sci.*, 22: 923–930.
- Cai W., Casey D.S., Dekkers J.C.M. (2008). Selection response and genetic parameters for residual feed intake in

- Yorkshire swine. *J. Anim. Sci.*, 86: 287–298.
- Canario L., Lundgren H., Haandlykken M., Rydhmer L. (2010). Genetics of growth in piglets and the association with homogeneity of body weight within litters. *J. Anim. Sci.*, 88 (4): 1240–1247.
- Carreira A.C., Gutemberg G.A., Zambuzzi W.F., Sogayar M.C., Granjeiro J.M. (2014). Bone morphogenetic proteins: structure, biological function and therapeutic applications. *Arch. Biochem. Biophys.*, 561: 64–73.
- Chen X., Sun H., Tian S., Xiang H., Zhou L., Dun W., Zhao X. (2015 a). Increasing litter size in a sheep breed by marker-assisted selection of BMP1B A746G mutation. *J. Genet.*, 94 (1): 139–142.
- Damgaard L.H., Rydhmer L., Løvendahl P., Grandinson K. (2003). Genetic parameters for within-litter variation in piglet birth weight and change in within-litter variation during suckling. *J. Anim. Sci.*, 81 (3): 604–610.
- Davis G.H. (2005). Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genet. Sel. Evol.*, 37: 11.
- De Simoni Gouveia J.J., da Silva M.V.G.B., Paiva S.R., de Oliveira S.M.P. (2014). Identification of selection signatures in livestock species. *Genet. Mol. Biol.*, 37 (2): 330–342.
- Demars J., Fabre S., Sarry J., Rossetti R., Gilbert H., Persani L. (2013). Genome-wide association studies identify two novel *BMP15* mutations responsible for an atypical hyperprolificacy phenotype in sheep. *PLoS Genetics*, 9 (4): e1003482.
- Distl O. (2007). Mechanisms of regulation of litter size in pigs on the genome level. *Reprod. Domest. Anim.*, 42 (2): 10–16.
- Dobek A., Wójtowski J., Szwaczkowski T., Moliński K., Gut A. (2004). Genetic variability for birth and fourth week weights in sheep. *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 47, Special Issue, pp. 64–72.
- Drouilhet L., Mansanet C., Sarry J., Tabet K., Bardou P., Woloszyn F., Lluch J., Harichaux G., Viguie' C., Monniaux D., Bodin L., Mulsant P., Fabre S. (2013). The highly prolific phenotype of Lacaune sheep is associated with an ectopic expression of the *B4GALNT2* gene within the ovary. *PLoS Genetics*, 9 (9): e1003809.
- Dube J.L., Wang P., Elvin J., Lyons K.M., Celeste A.J., Matzuk M.M. (1998). The bone morphogenetic protein 15 gene is X-linked and expressed in oocytes. *Mol. Endocrinol.*, 12: 1809–1817.
- Elvin J.A., Yan Ch., Matzuk M.M. (2000). Oocyte-expressed TGF- β superfamily members in female fertility. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 159: 1–5.
- Esteve-Codina A., Kofler R., Palmieri N., Bussotti G., Notredame C., Pérez-Enciso M. (2011). Exploring the gonad transcriptome of two extreme male pigs with RNA-seq. *BMC Genomics*, 12: 552.
- Ferencakovic M., Hamzic E., Gredler B., Curik I., Solkner J. (2011). Runs of homozygosity reveal genome-wide autozygosity in the Austrian Fleckvieh cattle. *ACS*, 76: 325–328.
- Ferraz A.L., Ojeda A., Lopez-Bejar M., Fernandes L.T., Castello A., Folch J.M., Perez-Enciso M. (2008). Transcriptome architecture across tissues in the pig. *BMC Genomics*, 9: 173.
- Galloway S.M., McNatty K.P., Cambridge L.M., Laitinen M.P., Juengel J.L., Jokiranta T.S., McLaren R.J., Luiro K., Dodds K.G., Montgomery G.W., Beattie A.E., Davis G.H., Ritvos O. (2000). Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (*BMP15*) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat. Genet.*, 25: 279–283.
- Gilbert H., Bidanel J.P., Gruand J., Caritez J.C., Billon Y., Guillouet P., Lagant H., Noblet J., Sellier P. (2007). Genetic parameters for residual feed intake in growing pigs, with emphasis on genetic relationships with carcass and meat quality traits. *J. Anim. Sci.*, 85: 3182–3188.
- Gilbert H., Bidanel J.P., Billon Y., Lagant H., Guillouet P., Sellier P., Noblet J., Hermes S. (2012). Correlated responses in sow appetite, residual feed intake, body composition, and reproduction after divergent selection for residual feed intake in the growing pig. *J. Anim. Sci.*, 90 (4): 1097–108.
- Groeneveld L.F., Lenstra J.A., Eding H., Toro M.A., Scherf B., Pilling D., Negrini R., Finlay E.K., Jianlin H., Groeneveld E., Weigend S., GLOBALDIV Consortium (2010). Genetic diversity in farm animals – a review. *Anim Genet.*, 41, Suppl., 1: 6–31.
- Gui L.G., Joyce I.M. (2005). RNA interference evidence that growth differentiation factor-9 mediates oocyte regulation of cumulus expansion in mice. *Biol. Reprod.*, 72: 195–199.
- Gurgul A., Szmatola T., Ropka-Molik K., Jasielczuk I., Pawlina K., Semik E., Bugno-Poniewierska M. (2016 a). Identification of genome-wide selection signatures in the Limousin beef cattle breed. *J. Anim. Breed. Genet.*, 133 (4): 264–276.
- Gurgul A., Szmatola T., Topolski P., Jasielczuk I., Żukowski K., Bugno-Poniewierska M. (2016 b). The use of runs of homozygosity for estimation of recent inbreeding in Holstein cattle. *J. Appl. Genet.*, 57 (4): 527–530.
- Hanrahan J.P., Gregan S.M., Mulsant P., Mullen M., Davis G.H., Powell R., Galloway S.M. (2004). Mutations

- in the genes for oocyte-derived growth factors *GDF9* and *BMP15* are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). *Biol. Reprod.*, 70: 900–909.
- Hogan B.L. (1996). Bone morphogenetic proteins: multifunctional regulators of vertebrate development. *Gen. Develop.*, 10: 1580–1594.
- Hong E.P., Park J.W. (2012). Sample size and statistical power calculation in genetic association studies. *Gen. Inf.*, 10 (2): 117–122.
- Jagusiak W. (2005). Fertility measures in Polish Black-and-White cattle. 1. Genetic parameters of heifer fertility traits. *J. Anim Feed Sci.*, 14: 423–433.
- Jagusiak W., Ptak E., Żarnecki A. (2009). Relationship between fertility and intermediate optimum type traits in Polish HF. 60th Ann. Meeting of EAAP, Barcelona.
- Jarvis J.P., Cropp S.N., Vaughn T.T., Pletscher L.S., King-Ellison K., Adams-Hunt E., Erickson C., Cheverud J.M. (2011). The effect of a population bottleneck on the evolution of genetic variance/covariance structure. *J. Evol. Biol.*, 24 (10): 2139–2152.
- Laitinen M., Vuojolainen K., Jaatinen R., Ketola I., Aaltonen J., Lehtonen E., Heikinheimo M., Ritvos O. (1998). A novel growth differentiation factor-9(GDF-9) related factor is co-expressed with *GDF-9* in mouse oocytes during folliculogenesis. *Mech. Develop.*, 78: 135–140.
- Lassoued N., Benkhilil Z., Woloszyn F., Rejeb A., Aouina M., Rekik M., Bedhiaf-Romdhani S. (2017). *FecXBar* a Novel *BMP15* mutation responsible for prolificacy and female sterility in Tunisian Barbarine Sheep. *BMC Genetics*, 18: 43.
- Letterio J.J., Roberts A.B. (1998). Regulation of immune responses by TGF-beta. *Ann. Rev. Immunol.*, 16: 137–161.
- Lin S.Y., Morrison J.R., Phillips D.J., Kretser D.M. de (2003). Regulation of ovarian function by the TGF-beta superfamily and follistatin. *Reproduction*, 126: 133–148.
- Lucy M.C. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.*, 84 (6): 1277–1293.
- Ma Y., Wei J., Zhang Q., Chen L., Wang J., Liu J., Ding X. (2015). A genome scan for selection signatures in pigs. *PLoS One*, 10 (3): e0116850.
- Mandon-Pépin B., Oustry-Vaiman A., Vigier B., Piumi F., Cribiu E., Cotinot C. (2003). Expression profiles and chromosomal localization of genes controlling meiosis and follicular development in the sheep ovary. *Biol. Reprod.*, 68: 985–995.
- Maniatis N., Pollott G.E. (2003). The impact of data structure on genetic (co)variance components of early growth in sheep, estimated using an animal model with maternal effects. *J. Anim. Sci.*, 81 (1): 101–108.
- Maria G.A., Boldman K.G., Vleck L.D. van (1993). Estimates of variances due to direct and maternal effects for growth traits of Romanov sheep. *J. Anim. Sci.*, 71: 845–849.
- Marras G., Gaspa G., Sorbolini S., Dimauro C., Ajmone-Marsan P., Valentini A., Williams J.L., Macciotta N.P.P. (2014). Analysis of runs of homozygosity and their relationship with inbreeding in five cattle breeds farmed in Italy. *Anim Genet.*, 46: 110–121.
- Martin T.G., Sales D.I., Smith C., Nicholson D. (1980). Phenotypic and genetic parameters of lamb weights in a synthetic line of sheep. *Anim. Prod.*, 30: 261–269.
- Martinez-Royo A., Jurado J.J., Smulders J.P., Marti J.I., Alabart J.L., Roche A., Fantova E., Bodin L., Mulsant P., Serrano M., Folch J., Calvo J.H. (2008). A deletion in the bone morphogenetic protein 15 gene causes sterility and increased prolificacy in Rasa Aragonesa sheep. *Anim. Genet.*, 39 (3): 294–297.
- Massague J. (1998). TGF-beta signal transduction. *Ann. Rev. Biochem.*, 67: 753–791.
- Matos C.A.P., Thomas D.L., Gianola D., Tempelman R.J., Young L.D. (1997). Genetic analysis of discrete reproductive traits in sheep using linear and nonlinear models: I. Estimation of genetic parameters. *J. Anim. Sci.*, 75: 76–87.
- McNatty K.P., Juengel J.L., Wilson T., Galloway S.M., Davis G.H. (2001). Genetic mutations influencing ovulation rate in sheep. *Reprod. Fertil. Develop.*, 13: 549–555.
- McPherron A.C., Lee S.J. (1993). GDF-3 and GDF-9: two new members of the transforming growth factor-beta superfamily containing a novel pattern of cysteines. *J. Biol. Chem.*, 268: 3444–3449.
- Minozzi G., Nicolazzi E.L., Stella A., Biffani S., Negrini R., Lazzari B. i in. (2013). Genome wide analysis of fertility and production traits in Italian Holstein cattle. *PLoS ONE*, 8 (11): e80219.
- Missanjo E., Imbayarwo-Chikosi V., Halimani T. (2013). Estimation of genetic and phenotypic parameters for production traits and somatic cell count for Jersey dairy cattle in Zimbabwe. *ISRN Vet. Sci.*, pp. 470–585.
- Misztal I., Lawrol T., Short., VanRaden P. (1992). Multiple-trait estimation of variance components of yield and

- type traits an animal model. *J. Dairy Sci.*, 75: 544–551.
- Montgomery G.W., Crawford A.M., Penty J.M., Dodds K.G., Ede A.J., Henry H.M., Pierson C.A., Lord E.A., Galloway S.M., Schmack A.E., Sise J.A., Swarbrick P.A., Hanrahan V, Buchanan F.C., Hill D.F. (1993). The ovine Booroola fecundity gene (FecB) is linked to markers from a region of human chromosome 4q. *Natural Genetic*, 4: 410–414.
- Montgomery G.W., Lord E.A., Penty J.M., Dodds K.G., Broad T.E., Cambridge L., Sunden S.L., Stone R.T., Crawford A.M. (1994). The Booroola fecundity (FecB) gene maps to sheep chromosome 6. *Genomic*, 22: 148–153.
- Neser F.W.C., Erasmus G.J., Wyk J.B. van (2000). Genetic studies on the South African Mutton Merino: growth traits. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 30 (3): 172–177.
- Nicol L., Bishop S.C., Pong-Wong R., Bendixen C., Holm L.E., Rhind S.M., McNeilly A.S. (2009). Homozygosity for a single base-pair mutation in the oocyte-specific *GDF9* gene results in sterility in Thoka sheep. *Reproduction*, 138 (6): 921–933.
- Nielsen R., Williamson S., Kim Y., Hubisz M.J., Clark A.G., Bustamante C. (2005). Genomic scans for selective sweeps using SNP data. *Genome Res.*, 15 (11): 1566–1575.
- Notter D.R. (2008). Genetic aspects of reproduction in sheep. *Reprod. Dom. Anim.*, 43 (2): 122–128.
- Otsuka F., Shimasaki S. (2002). A negative feedback system between oocyte bone morphogenetic protein 15 and granulosa cell kit ligand: its role in regulating granulosa cell mitosis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 99 (12): 8060–8065.
- Otsuka F., Shin Y., Erickson G., Shimasaki S. (2000 a). Bone morphogenetic protein-15 inhibits Follicle-Stimulating Hormone (FSH) action by suppressing FSH receptor expression. *J. Biol. Chem.*, 276 (14): 11387–11392.
- Otsuka F., Yao Z., Lee T., Shin Y., Erickson G., Shimasaki S. (2000 b). Bone morphogenetic protein-15- identification of target cells and biological functions. *J. Biol. Chem.*, 275 (50): 39523–39528.
- Otsuka F., Moore R.K., Shimasaki S. (2001). Biological function and cellular mechanism of bone morphogenetic protein-6 in the ovary. *J. Biol. Chem.*, 276 (35): 32889–32895.
- Piwczyński D. (2009). Doskonalenie cech użytkowych merynosa polskiego. Wyd. Uczeln. Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego. Rozpr. nr 135, Bydgoszcz.
- Pramod K., Sharma S.K., Rajan R.K.A. (2013). Genetic ovulation rate in farm animals. *Vet. World*, 6 (11): 833–838.
- Pritchard T., Coffey M., Mrode R., Wall E. (2013). Understanding the genetics of survival in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 96 (5): 3296–309.
- Ranberg I., Heringstad B., Klemetsdal G., Svendsen M., Steine T. (2003). Heifer fertility in Norwegian dairy cattle: variance components and genetic change. *J. Dairy Sci.*, 86: 2706–2714.
- Rao S., Notter D.R. (2000). Genetic analysis of litter size in Targhee, Suffolk and Polypay sheep. *J. Anim. Sci.*, 78: 2113–2120.
- Ricard A., Touvais M. (2007). Genetic parameters of performance traits in horse endurance races. *Livest. Sci.*, 110: 118–125.
- Ricordeau G., Razungles J., Tchamitchain L., Lefevre C., Brunel J.C. (1982). Paramètres phenotypiques et genetiques des caractères de croissance et de reproduction des brebis croisées Berrichon du Cher x Romanov F1 a F4. *Ann. Genet. Sel. Anim.*, 14: 327–352.
- Różycki M., Szewczyk A., Żak G. (1998). Application of the BLUP method in evaluation of pig breeding value in Poland. *Die Bündelung des Landwirtschaftlichen Angebots und die Verbesserung der Marktposition der Erzeuger durch Erzeugerringe und Erzeugergemeinschaften*. In English. Mat. konf. pol.-niem. Wyd. wł. IZ, Balice, 5–6.10.1998, ss. 247–248.
- Rustin M., Janssens S., Buys N., Gengler N. (2009). Multi-trait animal model estimation of genetic parameters for linear type and gait traits in the Belgian warmblood horse. *J. Anim. Breed. Genet.*, 126 (5): 378–386.
- Sabeti P.C., Reich D.E., Higgins J.M., Levine H.Z., Richter D.J., Schaffner S.F., Gabriel S.B., Platko J.V., Patterson N.J., McDonald G.J., Ackerman H.C., Campbell S.J., Altshuler D., Cooper R., Kwiatkowski D., Ward R., Lander E.S. (2002). Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature*, 419 (6909): 832–837.
- Safari E., Fogarty N.M., Gilmour A.R. (2005). A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. *Livest. Prod. Sci.*, 92: 271–289.
- Samborski A., Graf A., Krebs S., Kessler B., Bauersachs S. (2013 a). Deep sequencing of the porcine endometrial transcriptome on day 14 of pregnancy. *Biol. Reprod.*, 88 (4): 84: 1–13.

- Samborski A., Graf A., Krebs S., Kessler B., Bauersachs S., Reichenbach M., Reichenbach H.D., Ulbrich S.E., Bauersachs S. (2013 b). Transcriptome changes in the porcine endometrium during the preattachment phase. *Biol. Reprod.*, 89 (6): 134.
- SanCristobal-Gaudy M., Bodin L., Elsen J-M., Chevalet C. (2001). Genetic components of litter size variability in sheep. *Genet. Sel. Evol.*, 33: 249–271.
- Serenius T., Stalder K.J. (2004). Genetics of length of productive life and lifetime prolificacy in the Finnish Landrace and Large White pig populations. *J. Anim. Sci.*, 82 (11): 3111–3117.
- Serenius T., Sevón-Aimonen M.L., Kaune A., Mantysaari E.A., Maki-Tanila A. (2004). Genetic associations of prolificacy with performance, carcass, meat quality, and leg conformation traits in the Finnish Landrace and Large White pig populations. *J. Anim. Sci.*, 82 (8): 2301–2306.
- Shimasaki S., Zachow R.J., Li D., Kim H., Iemura S., Ueno N., Sampath K., Chang R.J., Erickson G.F. (1999). A functional bone morphogenetic protein system in the ovary. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 96: 7282–7287.
- Silva B.D.M., Castro E.A., Souza C.J.H., Paiva S.R., Sartori R., Franco M.M., Azevedo H.C., Silva T.A.S.N., Vieira A.M.C., Neves J.P., Melo E.O. (2011). A new polymorphism in the growth and differentiation factor 9 (*GDF9*) gene is associated with increased ovulation rate and prolificacy in homozygous sheep. *Anim. Genet.*, 42: 89–92.
- Smolucha G., Piestrzyńska-Kajtoch A., Rejduch B. (2012). Genetyczny aspekt wysokiej plenności u owiec. *Cz. I. Wiad. Zoot.*, 1: 21–26.
- Snowder G.D. (2008). Genetic improvement of overall reproductive success in sheep. A review. *Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal*, 16: 32–40.
- Sole M., Cervantes I., Gutierrez J.P., Gomez M., Valera M. (2014). Estimation of genetic parameters for morphological and functional traits in a Menorca horse population. *Spanish J. Agricult. Res.*, 12 (1): 125–132.
- Souza C.J.H., MacDougall C., Campbell B.K., McNeilly A.S., Baird D.T. (2001). The Booroola (*FecB*) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1B (*BMPRI1B*) gene. *J. Endocrinol.*, 169: R1–R6.
- Su G., Lund M.S., Sorensen D. (2007). Selection for litter size at day five to improve litter size at weaning and piglet survival rate. *J. Anim. Sci.*, 85 (6): 1385–1392.
- Szewczyk A. (2003). Wykorzystanie różnych modeli w szacowaniu wartości hodowlanej owiec. Rozpr. dokt. Instytut Zootechniki (maszynopis), Kraków.
- Szyndler-Nędzka M. (2016). Coefficients of repeatability for colostrum and milk composition of PLW and PL sows over three consecutive lactations. *Livest. Sci.*, 185: 56–60.
- Szyndler-Nędzka M., Tyra M., Różycki M. (2010). Coefficients of heritability for fattening and slaughter traits included in a modified performance testing method. *Ann. Anim. Sci.*, 10 (2): 117–125.
- Ślósarz P. (2004). Ultrasonograficzne pomiary umięśnienia i otłuszczenia w ocenie wartości hodowlanej jagniąt białogłowej owcy mięsnej. *Rocz. AR w Poznaniu. Rozpr. Nauk., zesz. 347*, Poznań.
- Tänavots A., Kaart T., Saveli O. (2002). Herability and correlation of meat and fertility traits in pigs in Estonia. *Vet. Zoot.*, 19 (41): 106–108.
- Tosh J.J., Kemp R.A. (1994). Estimation of variance components for lamb weights in three sheep populations. *J. Anim. Sci.*, 72 (5): 1184–1190.
- Trapnell C., Pachter L., Salzberg S.L. (2009). Tophat: discovering splice junctions with RNA-Seq. *Bioinformatics*, 25: 1105–1111.
- Vacca G.M., Dhaouadi A., Rekik M., Carcangiu V., Pazzola M., Dettori M.L. (2010). Prolificacy genotypes at *BMPRI1B*, *BMPRI5* and *GDF9* genes in North African sheep breeds. *Small Rumin. Res.*, 88: 67–71.
- Våge D.I., Husdal M., Kent M.P., Klemetsdal G., Boman I.A. (2013). A missense mutation in growth differentiation factor 9 (*GDF9*) is strongly associated with litter size in sheep. *BMC Genetics*, 14: 1.
- Van Tassell C.P., Wiggans G.R., Norman H.D. (1999). Method R estimates of heritability for milk, fat, and protein yields of United States dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 82 (10): 2231–2237.
- VanRaden P.M., Olson K.M., Wiggans G.R., Cole J.B., Tooker M.E. (2011). Genomic inbreeding and relationships among Holsteins, Jerseys, and Brown Swiss. *J. Dairy Sci.*, 94 (11): 5673–5682.
- Vitt U.A., Hayashi M., Klein C., Hsueh A.J.W. (2000). Growth differentiation factor-9 stimulates proliferation but suppresses the follicle stimulating hormone-induced differentiation of cultured granulosa cells from small antral and preovulatory rat follicles. *Biol. Reprod.*, 62: 370–377.
- Vollema A.R., Groen A.F. (1996). Genetic parameters of longevity traits of an upgrading population of dairy cattle.

- J. Dairy Sci., 79 (12): 2261.
- Waples R.S., Yokota M. (2007). Temporal estimates of effective population size in species with overlapping generations. *Genetics*, 175 (1): 219–233.
- Waples R.S., England P.R. (2011). Estimating contemporary effective population size on the basis of linkage disequilibrium in the face of migration. *Genetics*, 189 (2): 633–644.
- Wijk H.J., Arts D.J., Matthews J.O., Webster M., Ducro B.J., Knol E.F. (2005). Genetic parameters for carcass composition and pork quality estimated in a commercial production chain. *J. Anim. Sci.*, 83 (2): 324–333.
- Wilson T., Wu X.Y., Juengel J.L., Ross I.K., Lumsden J.M., Lord E.A., Dodds K.G., Walling G.A., McEwan J.C., O’Connell A.R. (2001). Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 64: 1225–1235.
- Winnier G., Blessing M., Labosky P.A., Hogan B.L. (1995). Bone morphogenetic protein-4 is required for mesoderm formation and patterning in the mouse. *Gen. Develop.*, 9: 2105–2116.
- Wright S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 395–420.
- Yang H., Liu S.R., Zhong F.G., Yang Y.L., Zhang Y.S. (2009). Different expression of BMPR-IB in tissues of sheep. *Chinese J. Anim. Sci.*, 45: 6–8.
- Zhang Q., Calus M.P., Gulbrandsen B., Lund M.S., Sahana G. (2015). Estimation of inbreeding using pedigree, 50k SNP chip genotypes and full sequence data in three cattle breeds. *BMC Genetics*, 16: 88.
- Żarnecki A., Jagusiak W., Morek-Kopec M., Szyda J. (2016). Ocena wartości hodowlanej buhajów rasy PHF odmiany czarno-białej i czerwono-białej, grudzień 2016; http://wycena.izoo.krakow.pl/doc/metody_oceny_2016_3.pdf
- Montgomery G.W., Lord E.A., Penty J.M., Dodds K.G., Broad T.E., Cambridge L., Sunden S.L., Stone R.T., Crawford A.M. (1994). The Booroola fecundity (FecB) gene maps to sheep chromosome 6. *Genomic*, 22: 148–153
- Montgomery G.W., Crawford A.M., Penty J.M., Dodds K.G., Ede A.J., Henry H.M., Pierson C.A., Lord E.A., Galloway S.M., Schmack A.E., Sise J.A., Swarbrick P.A., Hanrahan V, Buchanan F.C., Hill D.F. (1993). The ovine Booroola fecundity gene (FecB) is linked to markers from a region of human chromosome 4q. *Natural Genetic*, 4:410–414.
- Wilson T., Wu X.Y., Juengel J.L., Ross I.K., Lumsden J.M., Lord E.A., Dodds K.G., Walling G.A., McEwan J.C., O’Connell A.R. (2001). Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. *Biology of Reproduction* 64: 1225–1235.
- Yang H., Liu S.R., Zhong F.G., Yang Y.L., Zhang Y.S. (2009). Different expression of BMPR-IB in tissues of sheep. *Chinese Journal of Animal Science*, 45: 6–8.
- Souza C.J.H., MacDougall C., Campbell B.K., McNeilly A.S., Baird D.T. (2001). The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type IB (BMPRI1B) gene. *Journal of Endocrinology*, 169: R1–R6.
- Chen X., Sun H., Tian S., Xiang H., Zhou L., Dun W., Zhao X. (2015a). Increasing litter size in a sheep breed by marker-assisted selection of BMPRI1B A746G mutation. *Journal of Genetic*. 94(1):139–142.

THE OUTLINE OF THE RESEARCH ISSUES IN THE FIELD OF GENETICS AND GENOMICS CONDUCTED IN POLISH CONSERVATION ANIMAL BREEDS WITHIN THE FRAMEWORK OF BIOSTRATEG PROJECT

Summary

Biodiversity is a significant element of sustainable animal production. It guarantees preserving diversity for accessible gene pool and the conservation of precious phenotypic traits of native animal breeds, manifesting themselves first and foremost with their resistance to unfavourable environmental conditions, longevity and effective feed conversion. Thereupon, rational management of conservation breed herds is essential, so that they can constitute genetic reserve for further breeding work and be a source of gene variants, which were lost under the influence of intensive artificial selection directed at the improvement of specified group of production traits.

State-of-the-art, high-efficiency techniques in the field of molecular genetics enable the examination of the genetic structure of the population and the identification of *loci* of functional polymorphisms shaping phenotype with the precision unheard-of until now. They enable comprehensive and detailed insight into genome structure of examined breeds and allow for the identification and conservation of genetic variability through the identification of unique gene variants on molecular level. A significant part of the tasks of BIOSTRATEG project entitled: “The uses and the conservation of farm animal genetic resources under sustainable development” financed from the funds of the National Centre for Research and Development and realized by the National Research Institute of Animal Production is devoted to this issue. Within the framework of the chosen issues, which are part of BIOSTRATEG project, presented in this paper, the comprehensive analysis of the structure of genetic population of cattle, sheep, horse and pig breeds included in genetic resources conservation breeds programme will be carried out as well as the identification of the relationships between the level of phenotypic traits and unique traits of a genome of these breeds. The characteristics of genetic parameters of productive and functional traits, allowing for better use of protected animal breeds in semicommercial production of high quality health-promoting food will be an additional aspect of the research. In the paper we made a synthesis of the subject matter of the issues included within a single task of BIOSTRATEG programme with the aim of acquainting a broader circle of the scientists with the realized subject matter. The results of the conducted research will enable among others the evaluation of genetic structure regularity and the evaluation of potential threats associated with inbreeding increase and working out the methods and measures, which will be able to be used in the realization of breeding programmes of the studied breeds.

Key words: transcriptome analysis, biodiversity, functional traits, productive traits, genomics, genetic parameters, conservation breeds



Owce pomorskie – *Pomeranian sheep* (fot. B. Borys)