

POLIMORFIZM WIELKOŚCI POWIERZCHNI CHROMOSOMÓW U LOCH RASY WBP

Maria Bogdzińska, Agata Ziółkowska

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy
Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Badaniami objęto grupę 20 loch rasy wielka biała polska. Płytki metafazowe uzyskano prowadząc hodowlę limfocytów z pełnej krwi na podłożu RPMI1640 z dodatkiem surowicy cielęcej, LF-7 oraz antybiotyku. Preparaty płytek metafazowych wykonano zgodnie z ogólnie przyjętymi metodami. Płytki metafazowe barwiono techniką GTG i rutynowo barwnikiem Giemsy. Preparaty przeanalizowano w mikroskopie świetlnym przy zastosowaniu powiększenia 1250X, a następnie za pomocą programu komputerowego MultiScan Karyotype v. 8.01.

Zaobserwowano różnice zarówno pod względem powierzchni autosomów, jak i chromosomów płci oraz całkowitej powierzchni zestawu chromosomów metafazowych w komórkach diploidalnych badanych loch.

Słowa kluczowe: polimorfizm, chromosomy, lochy rasy wbp

1. WSTĘP

Poszczególne gatunki zwierząt charakteryzują się specyficznym zestawem chromosomów zarówno pod względem liczby, jak i morfologii. Świnia domowa posiada 38 chromosomów, w tym parę chromosomów płci. Ocena prawidłowości kariotypu wymaga uwzględnienia faktu występowania polimorfizmu chromosomowego u zwierząt.

U różnych gatunków zwierząt gospodarskich (owiec, bydła, koni i świń) oceniano długość względną chromosomów płci, zwłaszcza chromosomu Y, określając w ten sposób polimorfizm długości chromosomów [3, 5, 9].

Polimorfizm liczby i wielkości odcinków chromosomów specyficznych pod względem struktury i funkcji badano z kolei w oparciu o wielkość bloków heterochromatyny centromerowej oraz obszarów jąderkotwórczych [9, 10].

Polimorfizm liczby chromosomów może wynikać z fuzji centrycznych lub występowania zmiennej liczby mikrochromosomów [2, 4].

Celem badań była analiza polimorfizmu wielkości chromosomów na podstawie pomiaru powierzchni chromosomów płci i chromosomów autosomalnych w płytkach metafazowych pochodzących od loch rasy wielkiej białej polskiej.

2. MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiła krew obwodowa pochodząca od 20 loch rasy wbp utrzymywanych w tym samym stadzie zarodowym, będących w jednakowym wieku. Hodowlę limfocytów prowadzono z pełnej krwi na podłożu RPMI1640 z dodatkiem surowicy cielęcej, LF-7 i antybiotyku. Preparaty płytek metafazowych wykonano zgodnie z ogólnie przyjętymi metodami [7]. Płytki metafazowe barwiono techniką GTG oraz rutynowo, wykorzystując barwnik Giemsa [7]. Preparaty analizowano w mikroskopie świetlnym przy powiększeniu 1250X oraz wykorzystując program komputerowy MultiScan Karyotype v. 8.01 [4].

Pomiary wielkości chromosomów wykonano w minimum trzech płytkach metafazowych, wykorzystując funkcję „powierzchnia”, i zapisano w programie Microsoft Excel. Obliczono średnie wielkości chromosomów płci i autosomów (μm^2).

Względną wielkość powierzchni chromosomów płci (%) oraz udział heterosomów (%) obliczano stosując następujące wzory:

- względna wielkość chromosomów płci = $[\text{suma powierzchni heterochromosomów } (\mu\text{m}^2) / \text{suma powierzchni autosomów } (\mu\text{m}^2)] \times 100\%$,
- udział chromosomów płci = $[\text{suma powierzchni heterochromosomów } (\mu\text{m}^2) / \text{suma powierzchni autosomów i heterochromosomów } (\mu\text{m}^2)] \times 100\%$.

Zmienność badanych cech chromosomów szacowano obliczając odchylenie standardowe (S_x) i współczynnik zmienności (V_x) [8].

3. WYNIKI

W tabeli 1 zamieszczono średnie wielkości powierzchni chromosomów płci i autosomów oraz średnią powierzchnię względną i udział heterochromosomów we wszystkich chromosomach metafazowych w badanej grupie loch.

Średnia powierzchnia chromosomów płci u loch rasy wbp wynosiła $8,0012 \mu\text{m}^2$. Najmniejszą średnią powierzchnię chromosomów płci – $6,6148 \mu\text{m}^2$ – stwierdzono u lochy nr 35, a największą – $10,8908 \mu\text{m}^2$ – u lochy nr 36 (tabela 1).

Pod względem średnich wartości powierzchni chromatyd chromosomów autosomalnych na uwagę zasługują obserwowane wielkości u loch o numerach 14 i 19 (tabela 1). Lochy nr 14 miała największą powierzchnię autosomów – $164,6374 \mu\text{m}^2$, zaś locha z numerem 19 najmniejszą – $127,2751 \mu\text{m}^2$. Średnia powierzchnia autosomów w badanej grupie loch wynosiła $150,0137 \mu\text{m}^2$ (tabela 1).

Średnia powierzchnia chromosomów w płycie metafazowej u badanych loch wynosiła $158,0249 \mu\text{m}^2$, przyjmując wartości od $134,5727 \mu\text{m}^2$ (locha nr 19) do $173,7255 \mu\text{m}^2$ (locha nr 36) (tabela 1).

W badanej grupie loch średnia powierzchnia względna chromosomów płci kształtowała się na poziomie 5,3545%, a udział chromosomów płci – 5,0696% (tabela 1). Lochy oznaczone numerem 35 cechowała się najmniejszymi wartościami średniej powierzchni względnej, (4,1905%) i udziału chromosomów płci we wszystkich chromosomach metafazowych (4,0220%). Z kolei najwyższe wartości średniej powierzchni względnej chromosomów płci i udziału chromosomów płci obserwowano u lochy nr 36 (tabela 1).

Tabela 1. Średnie wielkości powierzchni chromosomów płci i autosomów oraz względna wartość i udział heterochromosomów loch rasy wbp

Table 1. Average areas of sex chromosomes and autosomes and the relative value and percentage of heterochromosomes in Large White sows

Nr lochy Sow No	Średnia powierzchnia chromosomów płci Average area of sex chromosomes (μm^2)	Średnia powierzchnia chromatyd chromosomów autosomalnych Average area of chromatids of autosomal chromosomes (μm^2)	Średnia powierzchnia chromosomów płci i chromosomów autosomalnych Average area of sex chromosomes and autosomal chromosomes (μm^2)	Średnia powierzchnia względna chromosomów płci Average relative area of sex chromosomes (%)	Udział chromatyd chromosomów płci Percentage of chromatids of sex chromosomes (%)
1	7,1684	142,6115	149,7799	5,0265	4,7860
6	7,8806	135,9729	143,8535	5,7957	5,4782
9	7,1554	150,8246	157,9800	4,7442	4,5293
10	8,3301	137,3509	145,6810	6,0648	5,7180
13	8,4819	158,3705	166,8524	5,3557	5,0835
14	9,0152	164,6374	173,6526	5,4758	5,1915
19	7,2976	127,2751	134,5727	5,7338	5,4228
23	8,2414	152,5897	160,8311	5,4010	5,1243
27	7,3436	142,0457	149,3893	5,1699	4,9157
28	7,4811	151,7174	159,1985	4,9309	4,6992
29	7,8920	136,2047	144,0967	5,7942	5,4769
30	7,0687	154,4802	161,5489	4,5758	4,3756
31	7,7893	151,7519	159,5412	5,1329	4,8823
32	8,8439	159,8058	168,6497	5,5342	5,2439
33	9,0994	153,6824	162,7817	5,9209	5,5899
34	7,1236	162,9213	170,0449	4,3724	4,1892
35	6,6148	157,8518	164,4666	4,1905	4,0220
36	10,8908	162,8347	173,7255	6,6882	6,2690
37	8,0266	159,4942	167,5208	5,0326	4,7914
38	8,4789	137,8511	146,3300	6,1508	5,7944
Średnia Average	8,0112	150,0137	158,0249	5,3545	5,0696

W tabeli 2 zamieszczono wyniki obrazujące zmienność powierzchni autosomów i chromosomów płci w badanej grupie loch.

Analizując zmienność wielkości powierzchni chromatyd chromosomów płci w odniesieniu do wszystkich obserwowanych metafaz w badanej grupie loch stwierdzono współczynnik zmienności wynoszący 12,0697%. U poszczególnych loch współczynnik zmienności powierzchni heterochromosomów był zróżnicowany i zawierał się w granicach od 0,5291% (u lochy nr 28) do 7,8947% (u lochy nr 31) (tabela 2).

Powierzchnia chromosomów autosomalnych okazała się mniej zróżnicowana, gdyż współczynnik zmienności dla wszystkich analizowanych metafaz wynosił 7,1264%. Lochy oznaczone numerami 30 i 38 charakteryzowały się skrajnymi wartościami współczynnika zmienności, który wynosił odpowiednio 1,0753% i 1,3804% (tabela 2).

Najmniejszą zmiennością łącznej powierzchni chromosomów płci i chromosomów autosomalnych charakteryzowała się locha oznaczona numerem 30 – 1,0061%, zaś największą stwierdzono u lochy nr 38 – 1,2673% (tabela 2).

Spośród badanej grupy loch najmniejszą zmienność zarówno pod względem autosomów, jak i łącznej powierzchni chromosomów autosomalnych i heterochromosomów zaobserwowano u lochy oznaczonej numerem 30, a największą – u lochy nr 38 (tabela 2).

Analizując zmienność dotyczącą wielkości chromosomów stwierdzono, iż badana grupa 20 loch rasy wbp wykazuje zróżnicowanie zarówno pod względem powierzchni chromosomów płci, jak i autosomów (tabela 2). Większa zmienność wielkości chromosomów płci ($V_x = 12,0697\%$) w porównaniu ze zmiennością wielkości powierzchni chromosomów autosomalnych ($V_x = 7,1264\%$) nie wpłynęła na zwiększenie zmienności łącznej powierzchni chromosomów ($V_x = 7,0837\%$) (tabela 2). Obserwowana zmienność powierzchni chromosomów świadczy o ich polimorficzności u badanych loch rasy wbp.

Tabela 2. Zmienność wielkości powierzchni chromosomów płci i autosomów loch rasy wbp

Table 2. Variation in the area of sex chromosomes and autosomes in sows of the Large White breed

Osobnik Individual	Cecha – Trait					
	Powierzchnia chromatyd chromosomów płci Area of chromatids of sex chromosomes		Powierzchnia chromatyd chromosomów autosomalnych Area of chromatids of autosomal chromosomes		Powierzchnia chromosomów płci i chromosomów autosomalnych Area of sex chromosomes and autosomal chromosomes	
	Miary statystyczne – Statistical Measures					
	Sx (μm^2)	Vx (%)	Sx (μm^2)	Vx (%)	Sx (μm^2)	Vx (%)
1	0,1520	2,1200	1,7040	1,1949	1,6606	1,1087
6	0,3309	4,1996	1,6268	1,1964	1,5850	1,1018
9	0,1647	2,3023	1,6724	1,1088	1,6335	1,0340
10	0,2997	3,5978	1,8454	1,3436	1,7986	1,2346
13	0,3640	4,2919	1,7233	1,0882	1,6791	1,0063
14	0,1390	1,5424	1,9624	1,1920	1,9099	1,0998
19	0,2957	4,0522	1,4913	1,1717	1,4527	1,0795
23	0,5044	6,1197	1,8537	1,2148	1,8071	1,1236
27	0,1881	2,5611	1,7092	1,2032	1,6648	1,1144
28	0,0396	0,5291	1,9574	1,2902	1,9077	1,1983
29	0,3170	4,0169	1,6105	1,1824	1,5690	1,0889
30	0,1013	1,4337	1,6611	1,0753	1,6254	1,0061
31	0,6149	7,8947	2,0468	1,3488	1,9972	1,2519
32	0,1742	1,9694	1,8552	1,1609	1,8057	1,0707
33	0,4773	5,2456	2,0842	1,3562	2,0316	1,2481
34	0,1855	2,6045	1,9077	1,1709	1,8693	1,0993
35	0,2589	3,9142	1,9244	1,2191	1,8889	1,1485
36	0,7798	7,1605	1,8483	1,1351	1,8178	1,0464
37	0,0749	0,9334	1,8888	1,1842	1,8404	1,0986
38	0,2168	2,5570	1,9029	1,3804	1,8545	1,2673
Średnia Average	0,9669	12,0697	10,6906	7,1264	11,1940	7,0837

4. DYSKUSJA

Polimorfizm chromosomowy jest zjawiskiem występującym w obrębie kariotypu świń. Z danych literaturowych wynika, iż występuje on pod postacią polimorfizmu długości względnej, ocenianej głównie w odniesieniu do chromosomów płci [4, 5], który badano u kilku gatunków zwierząt gospodarskich, w tym również u świń.

Polimorfizm długości chromosomów oceniano głównie w chromosomach płciowych, na podstawie ich długości względnej, wyrażanej przez indeks centromerowy, czyli stosunek długości ramion krótkich do długich ($q : p$), lub procent długości zestawu haploidalnego autosomów i chromosomu płciowego X [4]. U kilku ras i linii syntetycznych świń hodowanych w Polsce obserwowano polimorfizm długości względnej chromosomu płci Y, najmniejszego i stosunkowo łatwego do identyfikacji w kariotypie zwierząt. Stwierdzono, że polimorficzne warianty długości względnej chromosomu Y można uznawać za charakterystyczne cechy poszczególnych ras świń. W literaturze przedmiotu brak odniesienia na temat określenia polimorfizmu wielkości chromosomów autosomalnych i płci u loch.

Wymienione w literaturze polimorficzne formy chromosomów występowały u wielu gatunków zwierząt gospodarskich, przy czym poszczególne gatunki i rasy różniły się znacząco formami i częstością występowania tego zjawiska. Nie stwierdzono jednoznacznie wpływu polimorfizmu wielkości chromosomów na cechy użytkowe zwierząt. Jednak badania potwierdziły tezę, że polimorfizm chromosomów może być wykorzystywany w poszukiwaniu markerów chromosomowych oraz mapowaniu genów [1, 2, 3]. Obserwacje polimorfizmu chromosomów, przeprowadzone w populacjach obejmujących jedną rasę, pozwalają na wykazanie różnic międzyosobniczych, natomiast wyniki dotyczące kilku ras, wzbogacone o analizy statystyczne, umożliwiają ustalenie tendencji rasowych [5, 6].

5. WNIOSKI

1. Badane lochy należące do rasy wielka biała polska posiadały prawidłową dla tego gatunku i płci liczbę chromosomów $2n = 38 XX$.
2. Stwierdzono różnice pod względem wielkości powierzchni chromosomów autosomalnych oraz całkowitej powierzchni chromosomów płci i autosomów w komórkach diploidalnych badanych loch.
3. Wyniki, które należy traktować jako wstępne, dają podstawę do dalszej kontynuacji badań w kierunku poszukiwania markerów cech użytkowych loch.

LITERATURA

- [1] Danielak-Czech B., 2000. Strukturalna niestabilność chromosomów zwierząt gospodarskich. Biul. Inf. IZ XXXVIII (4), 5–10.
- [2] Danielak-Czech B., 2001. Struktura niestabilności genomu przyczyną nieprawidłowości kariotypu świń. Biul. Inf. IZ XXXIX (4), 15–20.

- [3] Kozubska-Sobocińska A., 1998. Chromosomy płciowe u zwierząt gospodarskich w aspekcie zjawiska polimorfizmu i konserwatywności genetycznej. *Biul. Inf. IZ XXXVI* (2), 5–10.
- [4] Kozubska-Sobocińska A., Słota E., Bugno M., Danielak-Czech B., Rejduch B., 1999. Zastosowanie systemu Multiscan do oceny polimorfizmu chromosomów. *Rocz. Nauk. Zoot.* 26(3), 9–19.
- [5] Kozubska-Sobocińska A., Słota E., Danielak-Czech B., Rejduch B., 1995. Klasyfikacja polimorfizmu chromosomu Y u czterech ras bydła na podstawie pomiarów długości chromosomów płciowych. *Rocz. Nauk. Zoot.* 22 (2), 29–36.
- [6] Lassota Z., 1987. *Biologia molekularna i informacja genetyczna*. PWN Warszawa.
- [7] Olszewska M., 1981. *Metody badań chromosomów*. PWRiL Warszawa.
- [8] Ruszczyk Z., 1970. *Metodyka doświadczeń zootechnicznych*. PWRiL Warszawa.
- [9] Słota E., 1998. *Polimorfizm chromosomów świń*. Rozpr. hab, IZ Kraków.
- [10] Świtoński M., Pietrzak A., Buczyński J., 1997. Chromosomal markers (C-band and Ag-NOR) in the zlotnicka spotted pig. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 15 (3), 173–17.

POLYMORPHISM OF CHROMOSOME AREA IN LARGE WHITE POLISH SOWS (WBP)

Summary

The experiment involved a group of 20 sows of Large White Polish breed. The metaphase plates were obtained from full-blood lymphocyte culture on the RPMI 1640 medium plus of the calf serum, LF-7 and antibiotics. The metaphase plate preparations were made in compliance with commonly applied methods. The metaphase plates were stained using the GTG technique and, routinely, with the Giemsa dye. The preparations were analyzed with the light microscope giving a magnification of 1250X, and then with the MultiScan Karyotype v. 8.01 software.

Differences were observed both in the area of autosomes and sex chromosomes as well as in the total area of the metaphase chromosome set in diploid cells in sows.

Keywords: polymorphism, chromosomes, Large White Polish sows