

## ANALIZA PORÓWNAWCZA WZORÓW PRAŻKÓW G W KARIOTYPIE DANIELA (*DAMA DAMA*) I KOZY (*CAPRA HIRCUS*)\*

Anna Kozubska-Sobocińska<sup>1</sup>, Ewa Słota<sup>1</sup>, Maria Pakusiewicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instytut Zootechniki — Państwowy Instytut Badawczy, Dział Immuno- i Cytogenetyki Zwierząt,  
32-083 Balice k. Krakowa

<sup>2</sup>Akademia Rolnicza, Katedra Hodowli Bydła, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

*Porównano układ prążków G w kariotypie daniela (*Dama dama*) ( $2n = 68$ ) i kozy (*Capra hircus*) ( $2n = 60$ ) po zastosowaniu barwienia GTG z rozdzielczością 450 prążków. Zestawienie kariotypowych wzorów prążkowych wykazało analogię 28 par autosomów oraz pary heterosomów daniela w porównaniu z chromosomami kozy. Analogie wzorów prążków G u kozy i daniela sugerują konserwatywny w linearnym uporządkowaniu materiału genetycznego w chromosomach tych gatunków, co potwierdza, że porównania cytogenetyczne mogą być przydatnym narzędziem w mapowaniu genów.*

Analizy porównawcze genomów różnych gatunków zwierząt bazują głównie na zjawisku konserwatywności genetycznej. Dotyczy ono: wzorów prążkowych na chromosomach (Evans i in., 1973; Iannuzzi i in., 1990; Hayes i in., 1991; Ansari i in., 1999; Słota i in., 2001), sekwencji nukleotydowych (np. mikrosatelitarnych) (Edwards i in., 2000) oraz grup genów syntenicznych lub sprzężonych, często pozostających w takich samych relacjach nawet u gatunków taksonomicznie odległych (Di Berardino i in., 2004).

Porównania kariotypów, po barwieniu chromosomów technikami barwienia różnicowego, umożliwiają ujawnienie konserwatywności na poziomie wzorów prążków chromosomowych (Hayes i in., 1999). Identyfikacja analogicznych chromosomów lub ich fragmentów w kariotypach różnych gatunków zwierząt, porównywanych najczęściej w obrębie jednostek systematycznych (głównie rodzin), dostarcza kolejnych dowodów świadczących o tym, że ewolucyjnemu spokrewnieniu towarzyszy podobieństwo kariotypowe (Iannuzzi i Di Meo, 1995; Słota i in., 2001).

---

\* Praca wykonana w ramach działalności statutowej IZ — PIB, temat nr 3209.1.

Konserwatywny charakter niektórych chromosomów, w odniesieniu do grup syntenicznych, pozwala na wykorzystanie szeregu sond molekularnych, uzyskanych od jednego gatunku zwierząt, do mapowania techniką fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) chromosomów innego gatunku (Di Bernardino i in., 2004; Kozubska-Sobocińska i in., 2005).

Celem badań było porównanie kariotypu daniela (*Dama dama*) i kozy (*Capra hircus*) na podstawie wzorów prążków G na chromosomach metafazowych i wskazanie międzygatunkowych analogii chromosomowych.

### Materiał i metody

Porównanie kariotypów przeprowadzono u przedstawicieli dwóch rodzin należących do podrzędu *Ruminantia*: daniela (*Dama dama*) z rodziny *Cervidae* (3 osobniki) i kozy (*Capra hircus*) z rodziny *Bovidae* (10 osobników).

Badane zwierzęta, zarówno kozy rasy białej uszlachetnionej jak i daniela, pochodziły z ferm prywatnych.

Materiał do badań stanowiły próbki krwi pobierane z żyły jarzmowej do probówek zawierających heparynę litową jako antykoagulant.

Przedmiotem analiz były chromosomy metafazowe, otrzymane po rutynowej hodowli limfocytów *in vitro*. W celu precyzyjnej identyfikacji poszczególnych par chromosomów stosowano barwienie różnicowe techniką GTG (Wang i Fedoroff, 1972).

Kariotyp kozy ułożono w oparciu o standard prążków G opracowany przez Iannuzzi i Di Meo (1995), natomiast ze względu na brak międzynarodowego wzorca prążków G dla *Dama dama* kariogram dla tego gatunku ułożono kierując się morfologią i wielkością chromosomów oraz homologią prążków G (Świtoński i in., 2006). Porównując wzory prążków G na chromosomach obu gatunków zestawiono kariogram porównawczy. Jako bazowy przyjęto kariogram kozy (ze względu na istniejący międzynarodowy wzorzec prążków G dla tego gatunku). Chromosomy daniela z poszczególnych par porównywano z chromosomami kozy, ustalając istniejące analogie.

### Wyniki

Analiza chromosomów metafazowych barwionych rutynowo 10% roztworem Giemsy, przeprowadzona u kóz i danieli, wykazała u wszystkich badanych zwierząt kariotyp prawidłowy i umożliwiła porównanie tych gatunków uwzględniające liczbę chromosomów, ich morfologię oraz liczbę fundamentalną ramion autosomów (NFa; tab. 1).

Na podstawie wzorów prążków G, uzyskanych na chromosomach daniela po barwieniu różnicowym GTG, zestawiono pary chromosomów homologicznych, a następnie pary te uszeregowano w kariogram, uwzględniając typ morfologiczny i wielkość chromosomów oraz układ prążków poprzecznych (fot. 1).

Tabela 1. Porównanie kariotypu *Capra hircus* i *Dama dama*  
 Table 1. Comparison of the karyotype of the *Capra hircus* and *Dama dama*

Gatunek Species	Kozą — Goat <i>Capra hircus</i>		Daniel — Fallow deer <i>Dama dama</i>	
	2n	60,XX 60,XY	68,XX	68,XY
NF autosomów NF autosomes		58		68
Liczba par autosomów metacentrycznych Number of pairs of metacentric autosomes		0		1
Liczba par autosomów akrocentrycznych Number of pairs of acrocentric autosomes		29		32
Heterosom X X heterosome		akrocentryczny acrocentric		akrocentryczny acrocentric
Heterosom Y Y heterosome		metacentryczny metacentric		metacentryczny metacentric

Porównując chromosomy kozy i daniela (barwione techniką GTG) wykazano całkowitą zgodność wzorów prążków G dla 28 par autosomów daniela (w tym pary metacentrycznych i 27 par akrocentrycznych) i heterosomów. Wskazano akrocentryczne autosomy kozy (pary 18 i 19), których fuzja centryczna mogła prowadzić do utworzenia pary metacentrycznych autosomów daniela. Dla pięciu par autosomów daniela (pary: 18, 19, 29, 30 i 32) nie znaleziono chromosomów homologicznych ani też chromosomów homeologicznych w kariotypie kozy (fot. 2).

### Omówienie wyników

Konserwatyzm genetyczny, dotyczący wzorów prążków chromosomowych, najczęściej analizowany był u gatunków należących do tej samej rodziny (Ansari i in., 1999; Słota i in., 2003). Pierwsze badania porównawcze, przeprowadzone na zwierzętach z rodziny *Bovidae*, wykazały homologię prążków na chromosomach bydła, owiec i kóz (Evans i in., 1973). Wyniki te potwierdzili Iannuzzi i Di Meo (1995), którzy wskazali u tych trzech gatunków pary autosomów o homologicznym układzie prążków G i R. Autorzy ci przeprowadzili również szczegółowe analizy heterosomu X u bydła, bawoła rzeźnego, owiec i kóz, a na podstawie stwierdzonych analogii zaproponowali możliwe rearanżacje tego chromosomu w procesie ewolucji (Iannuzzi i Di Meo, 1995).

Zestawienie barwionych techniką GTG haploidalnych kompletów chromosomów owcy ( $2n = 54$ ) i owcy grzywiastej (*Ammotragus lervia*) ( $2n = 58$ ) ujawniło całkowitą homologię chromosomów w kariotypach obu gatunków i wskazało, że fuzje centryczne autosomów prowadziły do ewolucyjnych reorganizacji (Słota i in., 2001).

Różnicowanie kariotypów w obrębie rodziny *Bovidae*, którego przyczyną były różnego rodzaju rearanżacje chromosomów, potwierdza hipotezę dotyczącą ist-

nienia wspólnego przodka o wyjściowym kariotypie  $2n = 60$  (Wurster i Benirshke, 1968).

Przyjmuje się, że w toku ewolucji, w wyniku translokacji robertsonowskich chromosomów akrocentrycznych, doszło do redukcji liczby chromosomów. Sugestie te potwierdzają badania polimorficznych form kariotypu u dziko żyjących owiec z gatunku *Ovis*, u których zaobserwowano różne diploidalne liczby chromosomów:  $2n = 58$  (*O. vignei*),  $2n = 56$  (*O. ammon*),  $2n = 54$  (*O. aries*, *O. canadensis*, *O. dalli*, *O. musimon*, *O. orientalis*),  $2n = 52$  (*O. nivicola*) (Bruere i in., 1972; Bunch i Nadler, 1980).

Ewolucję kariotypów gatunków z rodziny *Bovidae* na drodze fuzji centrycznych potwierdziły badania Hayes i in. (1991). Według autorów, pomimo różnych liczb diploidalnych charakterystycznych dla gatunków należących do *Bovidae* (bydło i kozy  $2n = 60$ ; owce  $2n = 54$ ), układ prążków uzyskanych na chromosomach, po barwieniu techniką RBA, w większości przypadków umożliwił zestawienie par chromosomów analogicznych u porównywanych gatunków zwierząt. Znaleziono jedynie niewielkie różnice w prążkach R chromosomów 9. pary i heterosomów X i Y. Różnica ta, zdiagnozowana przez autorów jako inwersja paracentryczna krótkiego odcinka w obrębie ramion q chromosomu 9. kóz i bydła, w stosunku do chromosomów 9. pary u owiec, jest kolejnym dowodem wewnątrzchromosomowych ewolucyjnych rearanżacji u *Bovidae*.

Pierwsze wzorce kariotypowe gatunków należących do *Bovidae* (bydło, owce, kozy), ustalone podczas międzynarodowej konferencji w Reading (Ford i in., 1980), były kilkakrotnie weryfikowane (Long, 1985; Ansari i in., 1999; Di Berardino i in., 2001), natomiast brak jest międzynarodowych wzorców prążkowych dla gatunków z rodziny *Cervidae*.

Przeprowadzone przez Gustavssona i Sundta (1968) badania kariotypu zwierząt wolnożyjących z rodziny *Cervidae* (łoś, sarna, jeleń, jeleń wschodni i daniel) dotyczyły barwionych rutynowo chromosomów metafazowych, które uszeregowano według morfologii i wielkości. Dla gatunku *Dama dama* określono kariotyp 68,XY lub 68,XX oraz liczbę ramion chromosomów autosomalnych, która wynosiła 68. Ponadto wśród autosomów wyróżniono jedną parę długich chromosomów metacentrycznych i 32 pary akrocentryków. W przypadku heterosomów, X określono jako duży chromosom akrocentryczny, a Y jako mały submetacentryk.

W następnych próbach ustalenia kariotypu daniela zastosowano techniki barwienia różnicowego: GTG — uzyskano 350 prążków G na chromosomach metafazowych (Rubini i in., 1990) oraz RBA — przy rozdzielczości 527 prążków na chromosomach prometafazowych (Lioi i in., 1994).

Zastosowany w naszych badaniach, barwiony techniką GTG, kariotyp daniela do porównania ze wzorami prążków G na chromosomach metafazowych kozy, charakteryzował się rozdzielczością 450 prążków i umożliwił precyzyjne wskazanie chromosomowych analogii między porównywanymi gatunkami; świadczy to, że poziom 450 prążków daje wystarczającą rozdzielczość wzorów do analiz porównawczych.

Cytogenetyczne analizy porównawcze umożliwiają identyfikację markerów chromosomowych nawet u gatunków należących do różnych rodzin, czego przy-

kładem są wskazane pary chromosomów homologicznych u kozy i daniela. Ustalone analogi mogą być przydatne w badaniach ewolucyjnych a także w diagnostyce zmian chromosomowych u dziko żyjących gatunków, których kariotypy są znacznie słabiej poznane niż kariotypy zwierząt gospodarskich.

### Piśmiennictwo

- Ansari H.A., Bosma A.A., Broad T.E., Bunch T.D., Long S.E., Maher D.W., Pearce P.D., Popescu C.P. (1999). Standard G-, Q-, and R-banded ideograms of the domestic sheep (*Ovis aries*): homology with cattle (*Bos taurus*). Report of the committee for the standardization of the sheep karyotype. *Cytogenet. Cell Genet.*, 85: 317–324.
- Bruere A.N., Chapman H.M., Wyllie D.R. (1972). Chromosome polymorphism and its possible implications in the select Drysdale breed of sheep. *Cytogenetics*, 11: 233–243.
- Bunch T.D., Nadler C.F. (1980). Giemsa-band patterns of the tahr and chromosomal evolution of the tribe Caprini. *J. Hereditas*, 71: 110–116.
- Di Bernardino D., Di Meo G.P., Gallagher D.S., Hayes H., Iannuzzi L. (2001). International System for Chromosome Nomenclature of Domestic Bovids. *Cytogenet. Cell Genet.*, 92: 283–299.
- Di Bernardino D., Vozdova M., Kubickova S., Cernohorska H., Coppola G., Coppola G., Enne G., Rubes J. (2004). Sexing river buffalo (*Bubalus bubalis* L.), sheep (*Ovis aries* L.), goat (*Capra hircus* L.), and cattle spermatozoa by double color FISH using bovine (*Bos taurus* L.) X- and Y-painting probes. *Mol. Reprod. Dev.*, 67: 108–115.
- Edwards C.J., Gaillard C., Bradley D.G., MacHugh D.E. (2000). Y-specific microsatellite polymorphisms in a range of bovid species. *Anim. Genet.*, 31: 127–130.
- Evans H.J., Buckland R.A., Sumner A. (1973). Chromosome homology and heterochromatin in goat, sheep and ox studied by banding techniques. *Chromosoma*, 48: 383–402.
- Ford C.E., Pollock D.L., Gustavsson I. (1980). Proceedings of the First International Conference for the Standardization of Banded Karyotypes of Domestic Animals. *Hereditas*, 92: 145–162.
- Gustavsson I., Sundt C.O. (1968). Karyotypes in five species of deer (*Alces alces* L., *Capreolus capreolus* L., *Cervus Nippon Nippon Temm.* and *Dama dama* L.). *Hereditas*, 30: 233–248.
- Hayes H., Petit E., Dutrillaux B. (1991). Comparison of RBG-banded karyotypes of cattle, sheep, and goats. *Cytogenet. Cell Genet.*, 57: 51–55.
- Iannuzzi L., Di Meo G.P., Perucatti A., Ferrara L. (1990). A comparison of G- and R-banding in cattle and river buffalo prometaphase chromosomes. *Caryologia*, 43: 283–290.
- Iannuzzi L., Di Meo G.P. (1995). Chromosomal evolution in bovids: a comparison of cattle, sheep and goat G- and R-banded chromosomes and cytogenetic divergences among cattle, goat and river buffalo sex chromosomes. *Chromosome Res.*, 3: 291–299.
- Kozubska-Sobocińska A., Słota E., Pieńkowska-Schelling A., Schelling C. (2005). Comparative hybridization of the Y chromosome in selected species of *Bovidae*. *Ann. Anim. Sci.*, 5(1): 5–9.
- Lioi M.B., Scarfi M.R., Di Bernardino D. (1994). The RBA-banded karyotype of the fallow deer (*Dama dama* L.). *Cytogenet. Cell Genet.*, 67, 2: 75–80.
- Long S.E. (1985). Standard nomenclature for the G-band karyotype of the domestic sheep (*Ovis aries*). *Hereditas*, 103: 165–170.
- Rubini M., Negri E., Fontana F. (1990). Standard karyotype and chromosomal evolution of the fallow deer (*Dama dama* L.). *Cytobios*, 64: 258–259.
- Słota E., Kozubska-Sobocińska A., Bugno M., Giemza-Marek A., Kulig B. (2001). Comparison between the G-banded karyotype of the aoudad (*Ammotragus lervia*) and sheep (*Ovis aries*). *J. Appl. Genet.*, 42 (1): 59–64.
- Słota E., Kozubska-Sobocińska A., Kościelny M. (2003). Identification of the active X chromosome using RBA-banding technique. *Ann. Anim. Sci.*, 3 (1): 5–9.

- Świtoński M., Słota E., Jaszczak K. (2006). Kariotypy zwierząt domowych. W: Diagnostyka cytogenetyczna zwierząt domowych. Wyd. AR Poznań, ss. 51–72.
- Wang H.C., Fedoroff S. (1972). Banding in human chromosomes treated with trypsin. *Nature New Biol.*, 235: 52–53.
- Wurster D.H., Benirshke K. (1968). Chromosome studies in the superfamily Bovidae. *Chromosoma*, 25: 151–171.

Zatwierdzono do druku 27 X 2006

ANNA KOZUBSKA-SOBOCIŃSKA, EWA SŁOTA, MARIA PAKUSIEWICZ

**Comparison of the G-banded karyotype of the fallow deer (*Dama dama*) and goat (*Capra hircus*)**

SUMMARY

Karyotypes of the fallow deer (*Dama dama*) ( $2n = 68$ ) and goat (*Capra hircus*) ( $2n = 60$ ) were compared on the basis of G-banded chromosomes at the 450-band level. The common G-banded karyotype showed the analogy of 28 pairs of fallow deer autosomes and heterosomes with goat chromosomes. The analogy of G-banding pattern in the goat and fallow deer suggests the conservation in linear arrangement of genetic material in the chromosomes of these species. Thus comparative cytogenetics can be a useful tool in gene mapping.

Key words: comparative cytogenetics, fallow deer (*Dama dama*), goat (*Capra hircus*), G-banding