

Diagnostyka cytomolekularna w nowoczesnej hodowli zwierząt gospodarskich

Barbara Danielak-Czech, Anna Kozubska-Sobocińska, Barbara Rejduch

*Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy,
Dział Cytogenetyki i Genetyki Molekularnej Zwierząt,
32-083 Balice k. Krakowa*

Zakres badań i techniki diagnostyki cytomolekularnej

Przedmiotem badań cytogenetycznych jest analiza struktury i funkcjonowania aparatu genetycznego komórki z uwzględnieniem zmian, dotyczących liczby i morfologii chromosomów, a także fenotypowych efektów nosicielstwa diagnozowanych nieprawidłowości chromosomowych.

Podstawą konwencjonalnej diagnostyki cytogenetycznej jest mikroskopowa ocena chromosomów metafazowych lub prometafazowych (uzyskanych metodą hodowli limfocytów krwi *in vitro*) i barwionych nieróżnicująco odczynnikiem Giemsy.

Kolejny etap diagnostyczny to różnicujące barwienie prążkowe QFQ, GTG lub RBA i jego modyfikacje (o rozdzielczości 5–10 mln par zasad), które umożliwiają identyfikację poszczególnych par chromosomów homologicznych (na podstawie długości, morfologii i układu prążków Q, G, R).

Zastosowanie opisanej procedury umożliwia ustalenie kariotypu komórek somatycznych konkretnego osobnika na podstawie porównania osobniczego wzoru prążkowego ze standardowym dla badanego gatunku zwierząt układem prążków Q, G i R (od 300 do 450 w haploidalnym zestawie chromosomów), opracowanym w formie gatunkowo-specyficznego wzorca kariotypu (Słota i in., 2004). Rozszerzeniem standardowej analizy cytogenetycznej są wysoko rozdzielcze techniki prążkowe – HRBT (2–5 mln par zasad), których efektem jest obraz od 600 do 900 prążków i subprążków G lub R

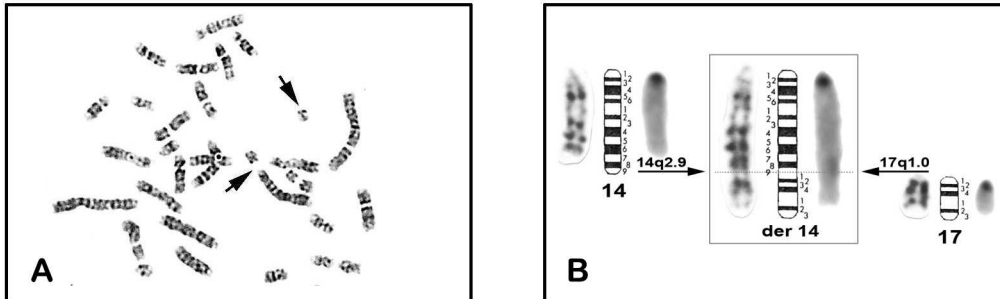
w haploidalnym zestawie wydłużonych chromosomów prometafazowych, odpowiadający wzorcom kariotypu, opracowanym dla chromosomów prometafazowych poszczególnych gatunków zwierząt (fot. 1).

Techniki barwienia różnicującego identyfikujące pary homologicznych chromosomów metafazowych lub prometafazowych są niezbędnym elementem badań genomu, obejmujących kontrolę prawidłowości kariotypu, diagnozę rearanżacji chromosomowych, identyfikację miejsc łamliwych chromosomów – *fragile sites*, określenie międzygatunkowej homologii i syntenicznego konserwatywności fragmentów chromosomów, fizyczne mapowanie genów i sekwencji mikrosatelitarnych, konstrukcję gatunkowych map cytogenetycznych zintegrowanych z mapami genetycznymi i międzygatunkowych map porównawczych oraz lokalizację konstruktów genowych w genomach zwierząt transgenicznym. Należy podkreślić, że techniki prążkowe są podstawowym narzędziem w cytogenetycznych badaniach przesiewowych i diagnostyce nieprawidłowości chromosomowych u zwierząt hodowlanych (fot. 1).

Istotnym uzupełnieniem klasycznych technik cytogenetycznych, obejmujących jednorodne lub różnicowe barwienie chromosomów, stała się analiza molekularna, szczególnie fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH) o rozdzielczości 3–4 mln par zasad. Hybrydyzacja *in situ* jest techniką, w której chromosom utrwalony na preparacie mikroskopowym wiąże się z komplementarną sondą w postaci wyznakowanego DNA (fot. 2A). Metoda ta pozwala także

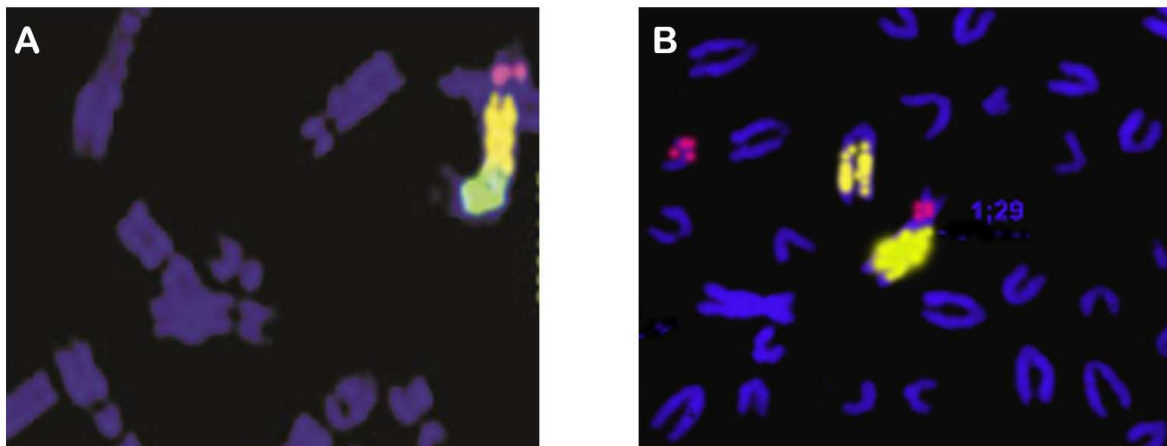
na międzygatunkowe hybrydyzacje *in situ*, co umożliwia stosowanie ludzkich sond w diagno-

stycie defektów genetycznych czy zmian kariotypu u różnych gatunków zwierząt (fot. 2B).



Fot. 1. Chromosomy prometafazowe barwione techniką GTG – HRBT: (A) translokacja wzajemna u knura o kariotypie 38,XY, rcp (10;13)(10q16;13q21); (B) tandem fuzja – translokacja u knura o kariotypie 37,XY, der (14;17)(14q29;17q10)

Fig. 1. Prometaphase chromosomes stained by GTG – HRBT technique: (A) reciprocal translocation in boar with karyotype 38,XY, rcp (10;13)(10q16;13q21); (B) tandem fusion – translocation in boar with karyotype 37,XY,der (14;17)(14q29;17q10)



Fot. 2. Technika FISH – identyfikacja aberracji chromosomowych: (A) fuzja centryczna u buhaja o kariotypie 59,XY,rob (1;29) – żółte sygnały identyfikują chromosomy 1. pary, czerwono-fioletowe pary 29.; (B) tandem fuzja – translokacja u knura o kariotypie 37,XY,der (14;17)(14q29;17q10) z wykorzystaniem ludzkich sond malujących: HSA10 (FITC), HSA12 (DIG) oraz HSA20 (Cy3)

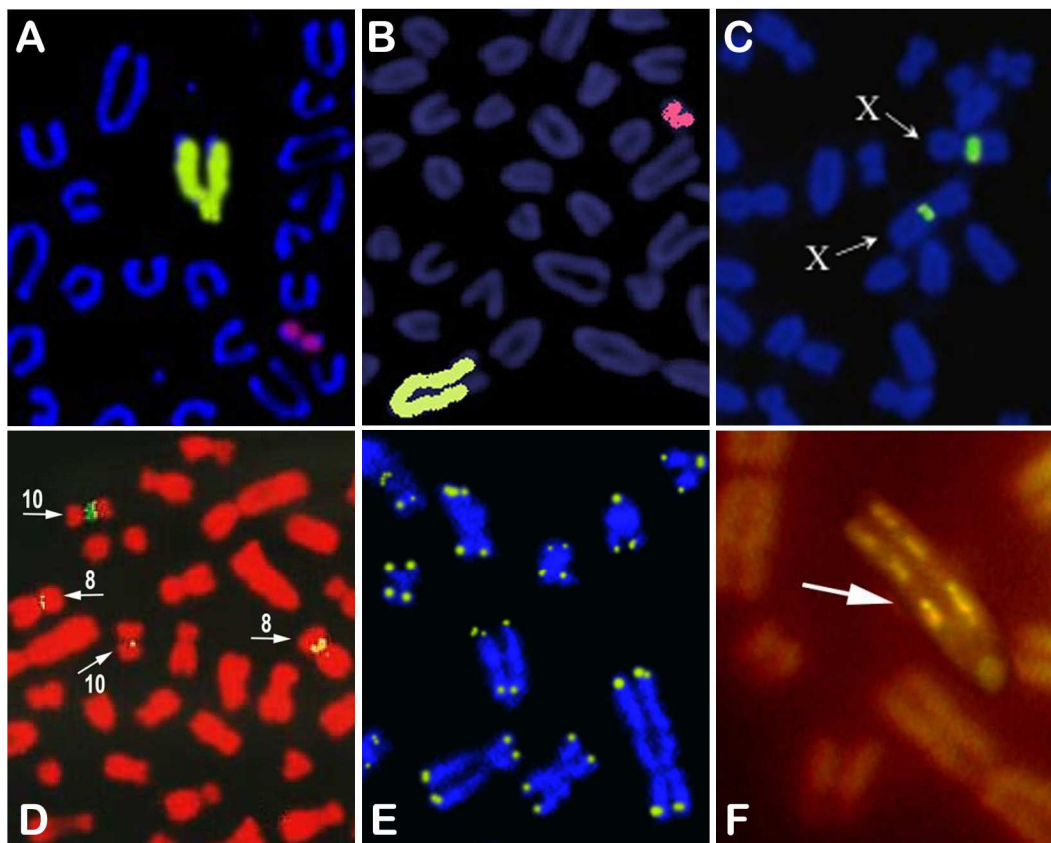
Fig. 2. FISH technique – identification of chromosomal aberrations: (A) centric fusion in bull with karyotype 59,XY,rob (1;29) – yellow signals identify chromosomes of pair 1, red – purple of pair 29; (B) tandem fusion – translocation in boar with karyotype 37,XY,der (14;17)(14q29;17q10) with the use of human painting probes: HSA10 (FITC), HSA12 (DIG) and HSA20 (Cy3)

Techniki molekularne (FISH, *in situ* PCR, PRINS i panel RH), wprowadzane do diagnostyki cytogenetycznej zwierząt, znacznie zwiększają zakres i precyzję badań cytogenetycznych, gdyż oprócz oceny prawidłowości kariotypu umożliwiają identyfikację chromoso-

mów i specyficznych regionów chromosomowych, fizyczną lokalizację genów i markerów genetycznych, identyfikację rearanzacji chromosomowych oraz ocenę polimorfizmu chromosomowego (fot. 3) (Danielak-Czech i in., 2010, 2013). Metody molekularne używane do mię-

dzygatunkowych analiz porównawczych (metoda klasyczna – CGH lub technika oparta na mikromacierzach – array-CGH) dają podstawę do

oceny konserwatywności genetycznej i badań filogenetycznych w aspekcie ewolucji kariotypu (Kozubska-Sobocińska i in., 2012).

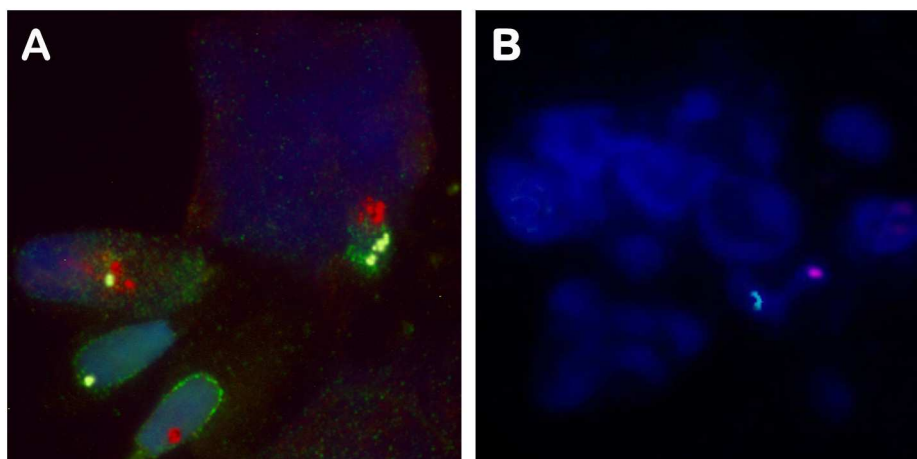


Fot. 3. Międzygatunkowe hybrydyzacje *in situ*: (A) identyfikacja heterosomów u goral – technika FISH z bydłęcymi sondami malującymi; (B) identyfikacja heterosomów u daniela – technika FISH z bydłęcymi sondami malującymi; (C) lokalizacja grupy sprzężeniowej 6 genów na chromosomie X konia – technika FISH z ludzką sondą, specyficzną dla prążka Xq13; (D) identyfikacja polimorficznych regionów jąderkotwórczych na autosomach świni – technika FISH z ludzką sondą bakteryjną (BAC); (E) identyfikacja telomerów na chromosomach świni – technika PRINS z ludzką sondą oligonukleotydomową; (F) lokalizacja niestabilnych powtórzeń trzynukleotydowych w sekwencji genu *FMRI* na chromosomie X kozy – technika *in situ* PCR z ludzkimi sondami oligonukleotydomowymi

Fig. 3. Interspecies hybridizations *in situ*: (A) identification of heterosomes in goral – FISH technique with bovine painting probes; (B) identification of heterosomes in fallow deer – FISH technique with bovine painting probes; (C) localization of linkage group of 6 genes on equine chromosome X – FISH technique with human probe specific for Xq13 band; (D) identification of polymorphic nucleolar organizer regions on pig autosomes – FISH technique with human bacterial (BAC) probe; (E) identification of telomeres on pig chromosomes – PRINS technique with human oligonucleotide probe; (F) localization of unstable trinucleotide repeats in *FMRI* gene sequence on goat chromosome X – *in situ* PCR technique with human oligonucleotide probes

Coraz częściej stosowana w diagnostyce cytogenetycznej technika fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* znajduje także zastosowanie w badaniach nasienia, ponieważ jest najbardziej wiarygodną metodą identyfikacji chromosomów w gametach (fot. 4A). Metoda FISH umożliwia

również analizę przebiegu mejozy w preparatach uzyskiwanych z fragmentów gonad, a także ocenę zjawiska wczesnej dysocjacji biwalentu heterosomów (fot. 4B) (Rejduch i Kozubska-Sobocińska, 2006; Kozubska-Sobocińska i Rejduch, 2008; Kozubska-Sobocińska i in., 2009).



Fot. 4. Technika FISH: (A) identyfikacja heterosomów w kozich spermatocytach I rzędu i plemnikach; (B) analiza procesu mejozy – sygnały hybrydyzacyjne wskazują zdysocjowany biwalent płciowy w stadium metafazy I spermatogenezy

Fig. 4. FISH technique: (A) identification of heterosomes in goat primary spermatocytes and spermatozoa; (B) analysis of meiosis process – hybridization signals show the dissociated sex bivalent in the metaphase I stage of spermatogenesis

Nieprawidłowości kariotypu zwierząt w aspekcie gatunkowym

Badania cytogenetyczne zwierząt hodowlanych rozpoczęto w Polsce od połowy lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku. Początkowo oceną kariotypu objęto dwa gatunki: bydło i świnie.

Kariotyp bydła, ze względu na akrocentryczną morfologię autosomów oraz charakterystyczny dla tego gatunku typ aberracji chromosomowych, polegających na fuzjach centromerowych, ocenia się głównie na podstawie analizy chromosomów metafazowych, barwionych konwencjonalnie barwnikiem Giemsy i tylko w uzasadnionych przypadkach stosuje się techniki barwienia różnicowego. Z kolei, ocenę prawidłowości kariotypu świń prowadzi się na podstawie obrazu chromosomów metafazowych, barwionych technikami prążkowymi (GTG, QFQ i RBA), co umożliwi precyzyjną diagnozę wyjątkowo często występujących u tego gatunku rearanżacji chromosomowych typu translokacji wzajemnych (fot. 1A).

Wieloletnie badania kilkutyśycznej populacji bydła wykazały, że najczęstszą mutacją chromosomową, występującą u tego gatunku są fuzje centryczne, zwane translokacjami robertsonowskimi, które powstają w wyniku pęknięcia dwóch chromosomów akrocentrycznych w okolicy centromeru, a następnie nieprawidłowej na-

prawy tego uszkodzenia, prowadzącej do utworzenia dużego dwuramiennego chromosomu i utraty małych okołocentromerowych fragmentów. Fuzje centryczne mogą występować zarówno w formie dicentrycznej, jak i monocentrycznej, a postać monocentryczna świadczy o utrwalonej w kariotypie formie translokacji.

Zdiagnozowano ponad 60 różnych translokacji robertsonowskich u wielu ras bydła, zarówno prymitywnych, jak i szlachetnych (głównie o użytkowości mięsnej). Nosiciele translokacji robertsonowskich mają prawidłowy fenotyp. W większości badań u osobników obarczonych fuzjami centrycznymi odnotowano obniżenie płodności, wyrażające się u buhajów niższym wskaźnikiem niepowtarzalności rui, natomiast u krów wydłużonym okresem międzywycieleniowym.

Badania przebiegu mejozy u nosicieli translokacji robertsonowskich ujawniły w stadium pachytenu I podziału mejotycznego tworzenie się triwalentu, złożonego z chromosomu translokowanego oraz dwóch chromosomów z par zaangażowanych w translokację. Triwalent zazwyczaj prawidłowo segreguje, czego efektem jest powstawanie dwóch rodzajów gamet: z prawidłową liczbą chromosomów ($n=30$) oraz zawierających chromosom translokowany ($n=29$). Nieprawidłowa segregacja zachodzi rzadko i dotyczy kilku procent komórek, dzielących się

mejotycznie, a jej efektem jest powstawanie aneuploidalnych gamet, które po zapłodnieniu odpowiadają za powstawanie aneuploidalnych zarodków, zamierających we wczesnym okresie rozwoju embrionalnego, co prowadzi do niewielkiego obniżenia płodności, na poziomie około 5%.

Najczęściej diagnozowaną w populacji bydła fuzją centryczną jest translokacja robertsonowska 1;29 (fot. 2A). Pierwsze jej przypadki opisano w 1964 r. w populacji szwedzkiego bydła czerwono-białego, a kolejne zdiagnozowano u bydła ras włoskich: Chianina i Piemontese oraz francuskich: Blonde d'Aquitaine, Charolaise, Limousine).

W Polsce fuzję centryczną 1;29 diagnozowano w populacji bydła rasy Charolaise, u potomstwa trzech buhajów rasy Blonde d'Aquitaine, a także u osobników ras: nizinnej czarno-białej, nizinnej czerwono-białej i polskiej czerwonej (fot. 2A). Oprócz fuzji 1;29 w polskiej populacji bydła zidentyfikowano dwie inne translokacje robertsonowskie. W pierwszą, zdiagnozowaną u pięcioraczków rasy czerwono-białej, zaangażowane były chromosomy z par 13. i 24., natomiast w drugą (dicentryczną) u buhajka rasy czerwono-białej – chromosomy z par 5. i 22.

Inną kategorię wad kariotypu, najczęściej spotykaną u bydła, stanowi chimeryzm leukocytarny XX/XY. Polega on na występowaniu we krwi jednego osobnika dwóch populacji komórek o kariotypie męskim i żeńskim. Pojawia się u bliźniąt różnopłciowych i jest wynikiem tworzenia się wspólnego krwiobiegu poprzez anastomozy, czyli połączenia naczyniowe między błonami płodowymi współbliźniaków. Jąłówki – nosicielki chimeryzmu leukocytarnego są bezpłodne, natomiast brak jednoznacznej odpowiedzi dotyczącej płodności buhajków. Niektórzy autorzy twierdzą, że na ogół buhaje z chimeryzmem nie wykazują obniżenia płodności i po dokładnym zbadaniu jakości nasienia mogą być warunkowo dopuszczone do rozrodu. Inni natomiast wskazują na zmiany morfologii, ruchliwości i przeżywalności plemników, wady akrosomu, niekiedy azoospermię, słabe libido, obniżoną żywotność i koncentrację plemników. Zjawisko ciąży mnogich u bydła dotyczy niespełna 2% urodzeń, natomiast anastomozy rozwijają się u około 98% bliźniąt. Znacznie częściej ciąży mnogie zdarzają się u owiec (od 40 do blisko 100% ciąży, zależnie od rasy). Biorąc

jednak pod uwagę, że anastomozy powstają u jednego do kilkunastu procent bliźniąt owczych, w konsekwencji częstość frymartyzmu u tych gatunków kształtuje się na podobnym poziomie (Rejduch i in., 2004; Rychlik i in., 2005).

Wśród aberracji, dotyczących liczby chromosomów, istotną pozycję zajmują aneuploidie heterosomów, polegające na pojawieniu się dodatkowego (trisomia) lub braku (monosomia) chromosomu płciowego w kariotypie nosiciela. Z reguły są one przyczyną wad rozwojowych układu rozrodczego i bezpłodności. Anomalie te powstają na skutek zaburzeń przebiegu mejozy typu *non disjunctio* u jednego z rodziców, powodując tworzenie gamet z nadliczbowymi chromosomami płciowymi lub z ich brakiem.

Trisomia XXY u buhaja została po raz pierwszy opisana w 1965 r. Dotychczas stwierdzono kilkanaście przypadków nosicieli tego syndromu, których kariotyp wyrażony był trisomią prostą, chimeryzmem lub mozaiką, zawsze jednak z udziałem linii XXY. Spośród czterech przypadków zdiagnozowanych w Polsce, u trzech buhajków z zespołem XXY aberracja wystąpiła w postaci prostej, natomiast u czwartego w formie chimeryzmu 60,XX/61,XXY (Słota i in., 2003). U buhajów z trisomią XXY stwierdzano hipoplazję jąder, różny stopień degeneracji kanalików plemnikotwórczych, w większości przypadków brak spermatogenezy, czasem słabszy rozwój somatyczny. Jedyne przypadki prawidłowego przebiegu spermatogenezy u buhaja o kariotypie 60,XY/61,XXY/59,XO został opisany w 1975 r.

Charakterystyczną cechą kariotypu świni domowej jest wyjątkowo częste występowanie rearanzacji strukturalnych, które powstają najczęściej *de novo* jako rezultat pęknięć w niestabilnych regionach genomu (miejscach łamliwych chromosomów – *fragile sites*) pod wpływem szkodliwego działania czynników środowiskowych. Nie stwierdzono dotąd u tego gatunku dwóch identycznych aberracji strukturalnych u niespokrewnionych osobników; zaobserwowano jednak, że są one efektem powtarzających się, nielosowych pęknięć chromatyd, zarówno pod względem zaangażowania poszczególnych chromosomów, jak i ich regionów.

Przypadki translokacji wzajemnych, które dominują wśród nieprawidłowości kariotypu świń, dotyczą wszystkich chromosomów autosomalnych i heterosomów. Translokacje wza-

jemne powstają w wyniku pęknięcia dwóch lub więcej różnych chromosomów i wzajemnej wymiany fragmentów chromosomowych na skutek nieprawidłowej naprawy tych pęknięć. Mutacje te nie powodują zmiany liczby chromosomów, lecz zmieniają ich morfologię, są dziedziczne, a część opisanych przypadków powstała *de novo* (fot. 1A) (Danielak-Czech i in., 2006; Danielak-Czech i Słota, 2007).

Największym problemem hodowlanym są dziedziczne zrównoważone translokacje wzajemne, drastycznie obniżające liczbę prosiąt w miotach (5–100%, całkowita bezpłodność dotyczy nosicieli translokacji X;autosom), nieco mniejszym translokacje Robertsonowskie lub fuzje tandemowe (obniżenie płodności 5–22%), czy inwersje (tylko w nielicznych przypadkach płodność nieznacznie niższa) (fot. 1) (Danielak-Czech i Słota, 2008 a, b).

Przyczyną obniżenia płodności nosicieli wad kariotypu są zaburzenia procesu gametogenezy, spowodowane nieprawidłową koniugacją i segregacją nietypowych struktur chromosomowych (tetrawalent, triwalent, uniwalent zamiast charakterystycznych biwalentów), co prowadzi do powstawania gamet, a po ich zapłodnieniu – zarodków o niezrównoważonym kariotypie, które są eliminowane we wczesnych etapach rozwoju. W związku z tym, w przypadku knurów obarczonych aberracjami chromosomowymi, do klasycznej diagnostyki cytogenetycznej włącza się dodatkowe procedury analityczne, umożliwiające ocenę przebiegu spermatogenezy w tkankach jąder. Procedury te obejmują analizę procesu koniugacji w spermatocytach I rzędu w stadium pachytenu profazy I podziału mejozy przy użyciu techniki uwidaczniania kompleksów synaptonemalnych w mikroskopie świetlnym lub elektronowym oraz badanie mikroskopowe prawidłowości segregacji chromosomów (barwionych odczynnikiem Giemsa) w stadium metafazy I i II w trakcie konwencjonalnej oceny przebiegu mejozy w spermatocytach. Zdiagnozowanie zaburzeń przebiegu mejozy umożliwiło poznanie podłoża niepłodności lub obniżonej płodności osobników obarczonych zrównoważonymi mutacjami chromosomowymi, ze szczególnym uwzględnieniem nosicieli translokacji konstytutywnych (Rejduch i in., 2003, 2006).

Efektom monitoringu cytogenetycznego,

którym objęto liczne populacje świń na świecie, jest identyfikacja około 200 wad kariotypu, głównie strukturalnych aberracji chromosomowych (ponad 150 translokacji wzajemnych, 3 translokacje Robertsonowskie, 1 tandem-fuzja translokacja, co najmniej kilkanaście inwersji para- i pericentrycznych) oraz nielicznych aneuploidii (39 XXY, 37 X, 40 XXXY) i kilkunastu przypadków chimeryzmu limfocytarnego. Spośród opisanych dotąd u świni mutacji chromosomowych, dziewięć zdiagnozowano w Polsce (wszystkie, z wyjątkiem jednej, w Instytucie Zootechniki PIB w Balicach k. Krakowa): dwie inwersje, pięć translokacji wzajemnych i jedną tandem fuzję-translokację u świni domowej, a także translokację Robertsonowską w formie hetero- i homozygotycznej u dzika europejskiego oraz mieszańców dzika i świni domowej.

Nosicielstwo wad kariotypu wiąże się zwykle z niepłodnością lub obniżoną płodnością (sporadycznie powiązaną z cechami fenotypu obojnaczego), przesądzając o niskiej przydatności rozplodowej zwierząt hodowlanych, obarczonych tymi nieprawidłowościami. Wady te nie mogą być rozpoznane bez przeprowadzenia diagnostyki cytogenetycznej, ponieważ na ogół występują u osobników o normalnym eksterierze (i prawidłowych parametrach nasienia w przypadku knurów), a poprzez sztuczną inseminację mogą być szybko rozprzestrzeniane w populacjach, powodując straty w hodowli o istotnym znaczeniu ekonomicznym. Można temu zapobiec poprzez wczesne diagnozowanie i eliminację zwierząt, dotkniętych aberracjami chromosomowymi, przede wszystkim monitorując cytogenetycznie knury inseminacyjne przed ich wykorzystaniem w rozrodzie.

W wielu krajach europejskich funkcjonują systemy kontroli kariotypu rozplodników kierowanych do Stacji Hodowli i Unasienniania Zwierząt, natomiast w Polsce w Instytucie Zootechniki PIB w Balicach od 1989 r. realizowany jest monitoring cytogenetyczny buhajów i knurów zarodkowych. Skuteczność funkcjonowania systemu kontroli kariotypu uzasadnia potrzebę kontynuacji i intensyfikacji cytogenetycznych badań przesiewowych populacji zwierząt gospodarskich, ze szczególnym uwzględnieniem młodych samców przed ich wykorzystaniem w rozrodzie (Słota i in., 2004; Danielak-Czech i Słota, 2008 a, b).

Literatura

- Danielak-Czech B., Słota E. (2007). A new case of reciprocal translocation (10;13)(q16;q21) diagnosed in an AI boar. *J. Appl. Genet.*, 48 (4): 379–382.
- Danielak-Czech B., Słota E. (2008 a). Karyotype control system of AI boars in Poland: the current survey. *Ann. Anim. Sci.*, 8 (3): 255–262.
- Danielak-Czech B., Słota E. (2008 b). Tandem fusion-translocation: A unique karyotype rearrangement in the domestic pig. *Ann. Anim. Sci.*, 8 (4): 343–348.
- Danielak-Czech B., Słota E., Bugno M., Pieńkowska-Schelling A., Schelling C. (2006). Application of chromosome microdissection and chromosome painting techniques for reciprocal translocation in pigs. *Ann. Anim. Sci.*, 6 (2): 219–224.
- Danielak-Czech B., Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B. (2010). Diagnosis of tandem fusion-translocation in the boar using FISH technique with human painting probes. *Ann. Anim. Sci.*, 10 (4): 361–366.
- Danielak-Czech B., Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A. (2013). Identification of telomeric sequences in pigs with rearranged karyotype using PRINS technique. *Ann. Anim. Sci.*, 13 (3): 495–502.
- Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B. (2008). Identification of heterosomes in spermatozoa of rams with 54,XX/54,XY chimerism. *Vet. Med.-Czech.*, 53 (5): 250–254.
- Kozubska-Sobocińska A., Bugno-Poniewierska M., Słota E. (2009). Application of bovine heterosome painting probes to analysis of the sex bivalent in rams. *Ann. Anim. Sci.*, 9 (4): 373–378.
- Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B., Danielak-Czech B., Babicz M., Bąk A. (2012). Comparative sex chromosomes hybridizations in *Ruminantia*. *Ann. Anim. Sci.*, 12 (4): 497–502.
- Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A. (2006). Wykorzystanie techniki FISH w badaniach przebiegu mejozy u buhajów. *Med. Wet.*, 62 (1): 96–98.
- Rejduch B., Słota E., Sysa P., Kwaczyńska A., Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B. (2003). Diagnosis of a new reciprocal translocation rcp (9;14)(q14;q23) in infertile boar after the synaptonemal complex analysis. *Ann. Anim. Sci.*, 3 (2): 269–278.
- Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A., Radko A., Rychlik T., Słota E. (2004). The application of genetic markers for cell chimerism diagnosis in lambs. *J. Anim. Breed. Genet.*, 121: 197–203.
- Rejduch B., Kozubska-Sobocińska A., Słota E., Sysa P., Wrzeska M. (2006). Ocena zmian chromosomalnych w gonadach oraz potencjalny ich wpływ na płodność knurów. *Med. Wet.*, 62 (8): 881–812.
- Rychlik T., Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B., Sikora J. (2005). The phenomenon of cell chimerism in goats. *Vet. Med.-Czech.*, 50 (7): 311–314.
- Słota E., Kozubska-Sobocińska A., Kościelny M., Danielak-Czech B., Rejduch B. (2003). Detection of the XXY trisomy in a bull by using sex chromosome painting probes. *J. Appl. Genet.*, 44 (3): 379–382.
- Słota E., Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B., Rejduch B., Kowol P., Żyga A. (2004). A note on cytogenetic monitoring of Polish Red cattle. *J. Anim. Feed Sci.*, 13: 65–71.

CYTOMOLECULAR DIAGNOSTICS IN MODERN FARM ANIMAL BREEDING

Summary

Molecular genetics techniques (FISH, PRINS, *in situ* PCR) play a significant role in the study of structure, function and changes of metaphase or interphase chromosomes (in somatic, reproductive and embryonic cells), ensuring considerable progress in structural genomics of farm animals. Molecular analysis that includes FISH techniques finds increasing use in breeding practice as complementary to the classical cytogenetic diagnosis, necessary for identification and characterization of genetic defects determined by chromosomal aberrations and for evaluation of their biological and population consequences. The new diagnostic tools will contribute to identifying further chromosomal mutations and to increasing our knowledge of genetic defects in farm animals.

Fot. w art.: B. Danielak-Czech