

Streszczenie rozprawy doktorskiej mgr inż. Angeliki Mąsior pt.:

„Identyfikacja mieszańców lama × alpaka na podstawie analiz DNA”

Promotor: dr hab. inż. Katarzyna Piórkowska, prof. IŻ.

Data sporządzenia streszczenia: 27.04.2023.

Praca wykonana w Instytucie Zootechniki, Państwowym Instytucie Badawczym.

Alpaki (*Vicugna pacos*) i lamy (*Lama glama*) należą do rodziny południowoamerykańskich wielbłądowatych (Camelidae), tzw. SACs (ang. *South American Camelids*). Ich rodzimym miejscem występowania jest region Altiplano w Ameryce Południowej. Oba gatunki mają tę samą liczbę chromosomów ($2n = 74$) i mogą się swobodnie krzyżować, tworząc płodne potomstwo (hybrydy lama x alpaka). Pokolenie F₁ zazwyczaj charakteryzuje się średnią wielkością ciała i może być krzyżowane wstecznie z dowolnym typem rodzicielskim, jak i innymi osobnikami hybrydowymi. Kolejne pokolenia płodnych mieszańców ciężko jest odróżnić tylko oceniając ich fenotyp.

Alpaki słyną z produkcji włókna, które uchodzi za materiał luksusowy. Dlatego też ich hodowla rozszerzyła się również na inne kontynenty. Do Polski pierwsze alpaki sprowadzono w 2004 roku i od tego czasu zainteresowanie tym gatunkiem ciągle rośnie. Niestety dużo współcześnie żyjących osobników ma tendencję do produkcji włókna istotnie grubszego o wysokim stopniu włosowości. Zakłada się, że jedną z przyczyn tego niekorzystnego zjawiska jest trwająca od XVI wieku hybrydyzacja z gatunkiem lama. Obecnie, do Polski alpaki importowane są z różnych krajów, jednak najczęściej zwierząt pochodzi z Chile, ze względu na łagodne prawo tego kraju dotyczące kwestii eksportu zwierząt. Niestety nierzadkim procederem jest fakt, że alpaki trafiające do Polski nie posiadają udokumentowanych rodowodów, w związku z tym brak informacji o ich pochodzeniu. Dlatego też, celem niniejszej pracy była ocena markerów mikrosatelitarnych, regionu d-loop mitochondrialnego DNA i genu *DBY*, zlokalizowanego na chromosomie Y jako narzędzi do identyfikacji hybrydyzacji wśród alpak oraz określenie różnorodności genetycznej alpak utrzymywanych w Polsce. Rozważono również analizę obejmującą badanie całego genomu – Genotyping-By-Sequencing (GBS) jako skuteczną metodę do identyfikacji hybryd i krzyżówek wstecznych.

Materiałem do badań były cebulki włosowe oraz wymazy pobrane z wewnętrznej części policzka od alpak i lam utrzymywanych w Polsce. Pozyskano również jedną hybrydę pierwszej generacji, wraz z jej rodzicami. Wśród pozyskanych osobników do analizy wykorzystano

również dwie domniemane hybrydy lama x alpaka, wykazujące cechy fenotypowe mogące wskazywać na hybrydyzację między tymi dwoma gatunkami. Z pobranego materiału biologicznego wyizolowano DNA, a jego jakość i ilość oceniono na spektrofotometrze, a następnie wykonano analizy molekularne, które obejmowały amplifikacje 17 markerów mikrosatelitarnych, regionu d-loop oraz genu *DBY*. Markery mikrosatelitarne po amplifikacji zostały poddane rozdziałowi fragmentów STR metodą elektroforezy kapilarnej na sekwenatorze 3130xl, a następnie zgenotypowane i poddane analizom bioinformatycznym. Amplikony dla regionów d-loop i genu *DBY* zostały zsekwencjonowane metodą Sangera, a uzyskane sekwencje również poddano analizom bioinformatycznym.

Przy zastosowaniu markerów mikrosatelitarnych oszacowano poziom domieszki genetycznej, jednakże trudno było stwierdzić, kiedy hybrydyzacja dokładnie nastąpiła. Na podstawie tej analizy oszacowano, że 8.8 % przebadanych alpaka posiadała domieszkę lamy, przy założeniu współczynnika $q \geq 0.98$ dla zwierząt czystorasowych. Hybryda F_1 miała zaledwie 7.4 % domieszki lamy, podczas gdy jej rodzice zostali przypisani jako czystorasowa lama (ojciec) i czystorasowa alpaka (matka). Dla regionu *DBY* wśród badanych populacji nie zaobserwowano hybrydyzacji pomiędzy alpaka i lamą, a co więcej znaleziono cztery miejsca segregacji, czyli zmiany polimorficzne charakterystyczne tylko dla alpaka, bądź dla lamy. W regionie d-loop zaobserwowano introgresje pomiędzy mitochondrialnym DNA alpaka i lamy. Ponadto zaobserwowano, że hybrydyzacja zaburza kladogenezę, poprzez prowadzenie do wymieszania informacji genetycznej pomiędzy dwiema różnymi liniami ewolucyjnymi.

Różnorodność genetyczna alpaka utrzymywanych w Polsce na podstawie przeprowadzonych badań została odnotowana na wysokim poziomie, co dowodzi że populacje te nie są jednorodne a ich różnorodność genetyczna jest wciąż kształtowana. Otrzymane wyniki sugerują także, że alpaki i lamy wciąż niezupełnie rozdzieliły się pod względem genetycznym, a nawet zaobserwowano introgresje mtDNA w tych dwóch gatunkach. Nie znaleziono dowodów na hybrydyzację w linii męskiej po analizie genu *DBY*, jednakże cztery zmienne miejsca zidentyfikowane w obecnych badaniach mogą prawdopodobnie posłużyć jako markery diagnostyczne do identyfikacji alpaka, lamy i hybryd płci męskiej, jednakże hipoteza ta powinna zostać potwierdzona po przebadaniu większej ilości męskiej populacji alpaka i lamy.