

Dystans genetyczny między populacjami lisa polarnego a lisa pospolitego na podstawie polimorfizmu transferyny^{*})

MAGDALENA ZATOŃ-DOBROWOLSKA, ANDRZEJ FILISTOWICZ

Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt AR, ul. Kozuchowska 7, 51-631 Wrocław

Zatoń-Dobrowolska M., Filistowicz A.

Genetic distance between arctic and silver fox populations based on transferrin polymorphism

Summary

The aim of this study was to try to estimate the genetic distance between arctic fox populations (n=296 individuals) and silver fox populations (n=251 individuals) based on polymorphism in transferrin *locus*. In arctic fox, transferrin has two alleles: Tf^F and Tf^S with frequencies 0.473 and 0.527 respectively; in silver fox there are also two alleles: Tf^F (0,245) and Tf^D (0,755). Only one of three forms of transferrin (F) was observed in both populations, with very low frequencies. This situation is probably correlated with the fact that the genetic distance between these two species is large. This might suggest that these species have a common ancestor, but a long time ago they were separated and remained in genetic isolation.

Keywords: arctic fox, silver fox, transferrin polymorphism, genetic distance

Lis pospolity (*Vulpes vulpes* L.) i lis polarny (*Alopex lagopus* L.) występowały na terenie Europy w późnym pleistocenie. Przesuwanie się lodowca spowodowało rozdzielenie obszarów występowania tych gatunków. Lis polarny zajął strefę arktyczną półkuli północnej oraz wyspy Oceanu Lodowatego i Wyspy Aleucyckie, natomiast lis pospolity zajął teren Europy, Azji, północnej Afryki, Ameryki Północnej.

Oba gatunki lisa hodowane w fermach znacznie różnią się biologią, cechami morfologicznymi oraz kariotypem, występowaniem dodatkowych chromosomów i zmiennością heterochromatyny. Garnitur chromosomowy lisa pospolitego składa się z 17 par chromosomów (27), natomiast lis polarny charakteryzuje się polimorfizmem kariotypowym wywołanym fuzją centryczną (translokacją Robertsona), stąd osobniki mogą mieć 48, 49 lub 50 chromosomów (7, 28). Lis pospolity posiada także dodatkowe struktury określone jako mikrochromosomy (chromosomy B), których liczba jest zmienna i wynosi od 0 do 8 (27).

Liczne badania przeprowadzone w populacjach obu gatunków lisów (1, 2, 4, 5, 9, 10, 15-17, 20, 25) wykazały, że różnią się one m.in. typami transferyny, glikoproteiny (beta-globuliny) zbudowanej z pojedynczego łańcucha polipeptydów posiadającego dwa aktywne centra, wiążące dwie cząsteczki Fe³⁺. Aktywność obu centrów związana jest z funkcją, jaką pełni trans-

feryna w organizmie – transport jonów metali, takich jak: żelazo, cynk, miedź, magnez, mangan. Pod względem genetycznym transferyna uznawana jest za białko heterogenne, które wykazuje duże zróżnicowanie. Oznacza to, że w obrębie jednego gatunku występują różne typy transferyny, które różnią się między sobą składem aminokwasowym, a tym samym ruchliwością elektroforetyczną.

Występowanie licznych podobieństw i różnic zarówno o charakterze genetycznym, jak i fizycznym między lisem polarnym a lisem pospolitym upoważnia do podjęcia badań porównawczych nad polimorfizmem transferyny w celu określenia dystansu genetycznego między populacjami tych dwóch gatunków. Dodatkowym celem badań było określenie ewentualnych związków między polimorfizmem transferyny a niektórymi cechami użytkowymi lisów pospolitych i lisów polarnych.

Material i metody

Badaniami objęto lisy polarne i pospolite hodowane w fermie w Śniatych (woj. wielkopolskie) w latach 1997-1999. Pobrano próbki krwi od 547 niespokrewnionych osobników, w tym 251 lisów pospolitych (172 samce i 79 samic) oraz 296 lisów polarnych (212 samców i 84 samice), przy czym krew pobierano z żyły dostopowej zwierząt hodowlanych i z serca osobników ubitych w celu pozyskania skór. Użytkowość lisów określano cechami miotu po-

^{*} Badania finansowane przez KBN – grant nr 5 PO6D 01816.

chodzenia, łącznymi ocenami pokroju oraz ocenami barwy okrywy i typu barwnego (odcienia) barwy okrywy włosowej.

Krew pobraną od zwierząt odwirowano w celu uzyskania surowicy. Przeprowadzono elektroforezę natywną w pionowym 7,5% żelu poliakrylamidowym z zastosowaniem metody Juneja i Ghane (8) oraz systemu buforów Laemmliego (14) z niewielkimi modyfikacjami. Modyfikacje te polegały na zastosowaniu cieńszego i mniejszego żelu, usunięciu z buforów środków denaturujących (SDS i mercaptoethanolu) oraz prowadzeniu elektroforezy pionowej zamiast horyzontalnej. Elektroforezę prowadzono w aparacie Mini-Protean II firmy BioRad. Między pionowe szyby wylewano 7,5% żel rozdzielający oraz 4% żel zagęszczający. Elektroforezę przeprowadzono w temperaturze 4°C przy 100 V oraz 400 mA przez 3 h. Żele barwiono roztworem Coomassie Brilliant Blue R250 przez 30 minut w temperaturze pokojowej i odbarwiano roztworem odbarwiającym o składzie $\text{CH}_3\text{OH} : \text{CH}_3\text{COOH} : \text{H}_2\text{O}$ (300 ml : 100 ml : 600 ml) przez około 2 godziny. Po odbarwieniu żele archiwizowano komputerowo i przeprowadzono analizę uzyskanych prążków.

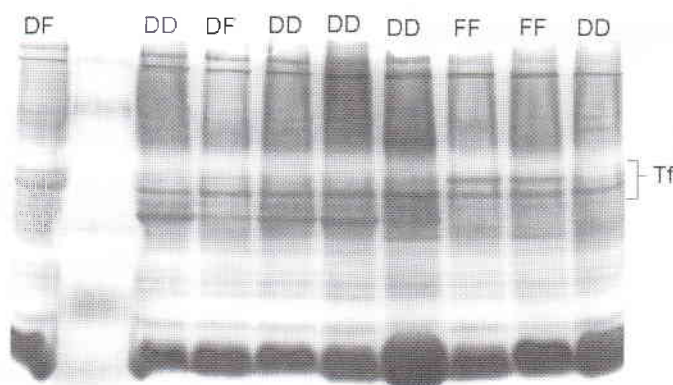
Wartości frekwencji alleli transferyny wykorzystano do oszacowania dystansu genetycznego między lisem polarnym a lisem pospolitym. Do oszacowania wartości dystansu genetycznego wykorzystano program Stat-Gen (11), w którym za podstawę oszacowania posłużyły wzory opracowane przez Nei'a (26) oraz Sokala i Sneath'a (26). W celu lepszego scharakteryzowania obu gatunków obliczono dla nich wskaźniki heterozygotyczności (HET) oraz indeksy polimorficzności (PIC) wykorzystując wzory zaproponowane przez Bolsteina i wsp. (3), Nei'a i Roychoudhury'ego (19) oraz Otta (21).

Użytkowość, pokrój oraz barwę i typ barwny okrywy lisów z różnymi typami transferyny poddano dwuczynnikowej analizie wariancji. Do porównania średnich wartości cech pokroju zwierząt oraz cech reprodukcyjnych samic lisów obu gatunków charakteryzujących się poszczególnymi fenotypami transferyny użyto testu Duncana. Obliczenia wykonano przy użyciu pakietu statystycznego SAS (24).

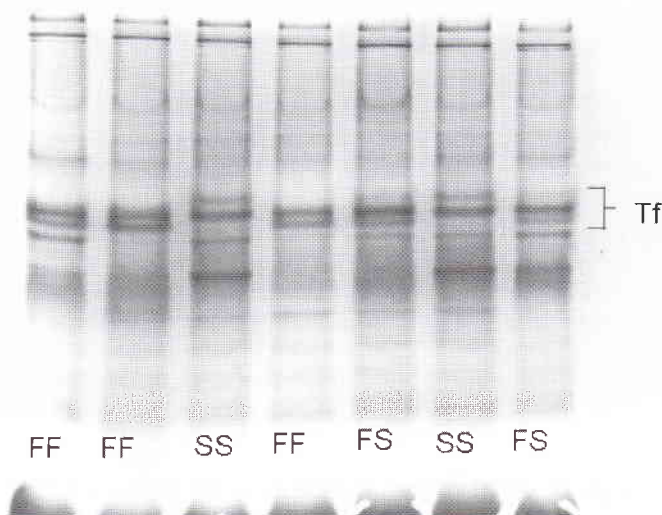
Wyniki i omówienie

W regionie transferyny (ryc. 1 i 2) stwierdzono występowanie pięciu różnych fenotypów, z których jeden był wspólny dla obu gatunków (FF), a z pozostałych dwa występowały w grupie lisa polarnego (SS, FS) i dwa (DF i DD) w populacji lisa pospolitego. Fenotyp FF na elektroforegramie występuje w formie dwóch linii, fenotyp SS charakteryzuje się także występowaniem dwóch prążków, które jednak migrują wolniej niż prążki FF, a wariant FS na elektroforegramie widoczny jest w postaci czterech prążków. Fenotyp DD charakteryzują dwa prążki, migrujące jednak szybciej niż prążki wariantu F. Układ otrzymanych prążków podobny jest do wyników otrzymanych przez Juneja i wsp. (9) oraz Brodackiego i Kostro (5).

W populacjach lisa pospolitego i lisa polarnego wystąpił allel Tf^F , allel Tf^S był charakterystyczny jedynie dla lisa polarnego, a allel Tf^D – dla lisa pospolitego



Ryc. 1. Rozdział elektroforetyczny białek surowicy lisa pospolitego



Ryc. 2. Rozdział elektroforetyczny białek surowicy lisa polarnego

(tab. 1). W badanej grupie lisów polarnych dominował pod względem częstości wariant S (0,527), natomiast w populacji lisa pospolitego – wariant D (0,755).

Balbierza i wsp. (1) stwierdzili 6 różnych fenotypów transferyny w populacji lisa polarnego: AA, BB, AB, AC, BC i CC. Jedynie w tych badaniach stwierdzono obecność trzech alleli. Późniejsze prace wskazują na występowanie w populacji tego gatunku jedynie alleli F i S, odpowiadających allelom oznaczonym przez Balbierza i wsp. (1) jako B i C. Madeyska-Lewandowska i wsp. (15-17) stwierdzili występowanie w populacji lisa polarnego trzech fenotypów transferyny: FF, FS i SS i tylko dwóch: DD i DF w populacji lisa pospolitego, z częstościami alleli Tf^F – 0,327 i Tf^S – 0,673 w populacji lisa polarnego oraz Tf^F – 0,040 i Tf^D – 0,960 w grupie lisa pospolitego. Niini i wsp. (20) analizowali polimorfizm białek surowicy krwi w populacjach lisa polarnego i lisa pospolitego pochodzących z różnych ferm duńskich i fińskich, i stwierdzili, że prawie wszędzie (oprócz jednej fermy) dominującym allelem pod względem częstości był allel Tf^F w przypadku lisa polarnego (od 0,57 do 0,89), a w przypadku lisa pospolitego – allel Tf^D (od 0,92 do 1,00).

Tab. 1. Frekwencje genotypów i alleli transferyny w badanej populacji lisa polarnego i lisa pospolitego

Gatunek	Genotypy					Allele		
	Tf ^D Tf ^D	Tf ^D Tf ^F	Tf ^F Tf ^F	Tf ^F Tf ^S	Tf ^S Tf ^S	Tf ^D	Tf ^F	Tf ^S
Lis polarny	0,000	0,000	0,304	0,338	0,358	0,000	0,473	0,527
Lis pospolity	0,590	0,331	0,079	0,000	0,000	0,755	0,245	0,000

Tab. 2. Dystans genetyczny między populacją lisa polarnego a lisa pospolitego oraz współczynnik heterozygotyczności (HET) i PIC w tych populacjach

Dystans genetyczny				HET		PIC	
wg Sokala i Sneatha	wg Nei'a standardowy	wg Nei'a minimalny	wg Nei'a maksymalny	Lis polarny	Lis pospolity	Lis polarny	Lis pospolity
0,948	1,232	0,450	1,579	0,498	0,370	0,374	0,301

Częstości alleli Tf^F i Tf^S w populacji lisa polarnego określone w badaniach własnych (tab. 1) mniej się różnią niż w innych badaniach prowadzonych na terenie Polski (15-17) i przyjmują wartości pośrednie dla populacji lisów polarnych w Polsce i w krajach skandynawskich (20). Ferma, w której prowadzono badania, korzystała od 1983 r. z importu lisów polarnych z Norwegii, Finlandii i Danii. Prawdopodobnie przez włączenie zwierząt importowanych do rozrodu uzyskano zmianę częstości alleli Tf^F i Tf^S (tab. 1) w porównaniu z innymi fermami lisa polarnego w Polsce (15-17). W przypadku lisa pospolitego frekwencje alleli Tf^D i Tf^F odbiegają w podobny sposób (tab. 1) od zanotowanych w innych badaniach polskich (15-17) i skandynawskich (20). Możliwe, że powodem jest użycie do rozplodu w fermie w Śniatach lisów srebrzystych importowanych z Kanady.

Wartości dystansu genetycznego obliczone na podstawie polimorfizmu transferyny są stosunkowo wysokie (tab. 2). Najprawdopodobniej spowodowane to jest tym, że na trzy allele, których obecność stwierdzono w przypadku transferyny surowicy krwi lisów, jedynie allel Tf^F jest wspólny dla obu gatunków. Nie jest on natomiast allelem dominującym pod względem częstości w populacji lisa pospolitego i w populacji lisa polarnego.

Znacznie mniejszy dystans genetyczny wystąpił między populacjami psowatych (8 populacji wilków, 6 populacji kojotów oraz populacja szakala złocistego) w Północnej Ameryce (23). Wartości dystansu oszacowanego na podstawie frekwencji alleli dla 10 loci mikrosatelitarnych kształtowały się na poziomie od 0,116 (między populacjami kojotów z rejonu Waszyngtonu i Kalifornii) do 0,871 (między populacją wilka z obszaru Vancouver i populacją kojotów z obszaru Alberta). Lade i wsp. (13) analizowali polimorfizm siedmiu loci mikrosatelitarnych (DB1, DB3, DB4, DB6, C213, OB i VD-10) w populacjach lisa pospolitego pochodzących z Australii i z Philip Island. Najwyższe wartości dystansu genetycznego nie przekraczały 0,20 między lisami z kontynentu i z Philip Island. Podobnie niskie wartości dystansu (od 0,00 do

0,18) określili Rintamäki i Tähtinen (22), na podstawie frekwencji alleli w czterech loci mikrosatelitarnych, między populacjami lisa pospolitego utrzymywanych w różnych fermach w Finlandii.

W świetle tych wyników, wartości dystansu genetycznego oszacowane w badaniach własnych (tab. 2) między dwoma gatunkami na podstawie locus transferyny należy uznać za miarodajne, to jest odpowiadające gatunkom, które posiadają wspólnego przodka,

dawno rozeszły się i pozostawały w izolacji genetycznej. Potwierdzają to wyniki badań Wayne'a (29), który podzielił psowate w swoich badaniach na cztery grupy: wilkopodobne (m.in.: szakal, kojot, szary i czerwony wilk), psowate Południowej Ameryki (m.in. bushdog i lis krabowy), lisopodobne (m.in.: lis pospolity, lis polarny i fenek) oraz inne (lis szary, jenot) i na podstawie analizy fragmentów mitochondrialnego DNA skonstruował drzewo filogenetyczne psowatych oraz określił ich pochodzenie.

Znamienne jest, że w przypadku transferyny wskaźnik heterozygotyczności i indeks polimorficzności PIC przyjęły wyższe wartości w grupie lisa polarnego w porównaniu z lisem pospolitym. Wyższe wartości HET i PIC dla lisa polarnego (tab. 2) można wytłumaczyć inną, bardziej zrównoważoną częstością genotypów: Tf^FTf^F – 0,304, Tf^FTf^S – 0,338, Tf^STf^S – 0,358 niż w populacji lisa pospolitego (Tf^DTf^D – 0,590, Tf^DTf^F – 0,331 oraz Tf^FTf^F – 0,079).

W tab. 3 przedstawiono rozkład częstości alleli transferyny w poszczególnych odmianach i typach barwnych analizowanych gatunków. W obrębie odmiany niebieskiej lisa polarnego wyraźnie różniły się częstościami alleli Tf^F i Tf^S lisy z bardzo jasnym typem barwnym, przy czym różnice między częstościami alleli ulegały zmniejszeniu wraz z pociemnieniem okrywy, osiągając zrównoważone frekwencje obu alleli (po 0,50) w grupie lisów z bardzo ciemnym typem barwnym. Wyjątek w ogólnej tendencji stanowiły lisy ciemne (z częstszym allelem Tf^S), co sugeruje, że zależność między typem barwnym (lub ogólnie barwą) a fenotypem transferyny nie jest prostoliniowa. Drugim wyjątkiem, bardzo charakterystycznym jest lis polarny biały, lecz obecny w genotypie tego lisa dominujący allel cienistości (S) nie pozwala ujawnić działania innych genów odpowiedzialnych za barwę okrywy włosowej (6). Brodacki i wsp. (4) analizowali różne odmiany barwne lisa pospolitego i stwierdzili obecność tylko jednego allelu transferyny – Tf^A. Tymczasem w badaniach własnych (tab. 3) stwierdzono różnice w częstości alleli transferyny i ich rozkładu w zależności od barwy okrywy i/lub jej typu barwnego.

Tab. 3. Frekwencje alleli transferyny w poszczególnych odmianach i typach barwnych w populacjach lisa polarnego i lisa pospolitego

Allel	Lis polarny					
	odmiana biała	typy barwne odmiany niebieskiej				bardzo ciemny (XD)
		bardzo jasny (XP)	jasny (P)	średni (M)	ciemny (D)	
Tf ^F	0,50	0,23	0,42	0,51	0,42	0,50
Tf ^S	0,50	0,77	0,58	0,49	0,58	0,50
n	10	11	55	173	31	11
Allel	odmiany barwne lisa pospolitego					
	srebrzysta	płomienista	białoszyjna	podpalana (krzyżak)	platynowa	złocista
Tf ^D	0,77	0,71	0,69	0,78	0,33	0,00
Tf ^F	0,23	0,29	0,31	0,22	0,67	1,00
n	208	21	8	9	3	2

Tab. 4. Średnie wartości cech w zależności od fenotypu transferyny w populacji lisa pospolitego i lisa polarnego

Cecha	Lis pospolity				Lis polarny			
	n	fenotyp transferyny			n	fenotyp transferyny		
		DD	DF	FF		FF	FS	SS
Łączna ocena pokroju (pkt.)	40	27,17	27,62	27,33	3	28,00	–	25,50
Liczebność miotu przy urodzeniu	237	5,25	5,63	5,72	260	9,55 ^{ab}	9,05 ^a	10,07 ^b
Liczebność miotu przy odsadzeniu	237	4,66	5,09	5,00	260	7,82	7,86	8,52
Średnia masa osobnika podczas odłączania od matki (7. tydzień)	237	1,23	1,16	1,16	184	1,25 ^a	1,23 ^{ab}	1,15 ^b

Objaśnienie: a, b – średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$

W obrębie drugiego gatunku (tab. 3) stwierdzono najwyższą frekwencję allelu Tf^D (0,77 i 0,78) wśród lisów najciemniejszych (srebrzyste i krzyżaki), nieco mniejszą (0,71 i 0,69) w grupie jaśniejszych lisów płomienistych i białoszyjnych, natomiast wysoka frekwencja allelu Tf^F wystąpiła w grupie jasnych, popielatych lisów platynowych (0,67) i lisów złocistych (1,0). Z uwagi na bardzo małe liczebności lisów odmian barwnych (nie należących do odmiany srebrzystej), rezultaty te należy traktować sygnałnie i poprzeć w przyszłości badaniami na liczniejszych grupach zwierząt. Badania Krośnickiej-Bombały (12) wykazały, że między barwą okrywy włosowej oraz ilością pierwiastków biochromowych (żelazo, miedź, mangan, chrom) we włosach zwierząt występuje wyraźna zależność. Z uwagi na funkcję transferyny w organizmach zwierząt można przypuszczać, że charakter związku występującego między barwą włosów a typem transferyny może wynikać z różnej jej aktywności w transporcie jonów metali w zależności od allelu (Tf^D, Tf^F i Tf^S), co może w sposób pośredni warunkować barwę okrywy włosowej zwierząt.

W przypadku lisa polarnego stwierdzono istotne różnice między fenotypami SS i FS pod względem liczby urodzonych szceniąt w miocie oraz między fenotypami FF i SS pod względem średniej masy ciała przy odsadzeniu szceniąt od matki (tab. 4). Osobniki o fenotypie SS pochodzą z najliczniejszych miotów, co może wskazywać na to, że ich matki – nosicielki allelu Tf^S mogły charakteryzować się licznymi miotami. Niestety, nie badano fenotypów transferyny tych samic, stąd nie można określić, czy istnieje jakikolwiek związek między polimorfizmem transferyny i użytecznością rozplodową lisów. Dotychczasowe badania nie dostarczyły jakichkolwiek przesłanek, upoważniających do takiego wniosku.

Lisy z fenotypem transferyny SS osiągnęły istotnie niższą masę ciała przy odsadzeniu od matek (w 7. tygodniu życia) od lisów z fenotypem FF, bo pochodziły z licznějších miotów przy urodzeniu i przy odsadzeniu od matek.

Wartości dystansu genetycznego między badanymi populacjami lisa, określone na podstawie polimorfizmu w *locus* transferyny wskazują stosunkowo duże zróżnicowanie między gatunkami lisów w *locus* transferyny, wynikające najprawdopodobniej z tego, że spośród trzech alleli jedynie Tf^F jest wspólny dla obu gatunków.

Allel ten charakteryzuje się mniejszą częstością (0,473) od allelu Tf^S (0,527) w populacji lisa polarnego i również mniejszą częstością (0,245) od allelu Tf^D (0,755) w populacji lisa pospolitego.

Piśmiennictwo

- Balbierz H., Nikolajczuk M., Pisanski W.: An immunogenetic characteristic of polar foxes. *Prace Mat. Zoot.* 1977a, 13, 7-13.
- Balbierz H., Nikolajczuk M., Gut-Koryzna W.: The use of transferrin polymorphism (Tf) in family investigations and in the sire identification in polar foxes. *Prace Mat. Zoot.* 1977b, 13, 15-20.
- Boistein D., White R. L., Skolnic M., Davis R. W.: Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Human Gen.* 1980, 32, 314-331.
- Brodacki A., Jeżewska G., Rupeć Z.: Wstępne badania nad porównaniem białek surowicy krwi u różnych odmian lisa pospolitego. *Zesz. Nauk. Przegł. Hod.* 1991, 5, 51-57.
- Brodacki A., Kostro K.: Identyfikacja polimorfizmu transferyny surowicy krwi u lisów pospolitych i polarnych. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska Lublin B* 1993, XI, 189-193.
- Filistowicz A., Wierzbicki H., Przysiecki P.: Preliminary studies on the inheritance of white coat colour in Arctic fox (*Alopex lagopus* L.). *J. Appl. Gen.* 1997, 38, 57-64.
- Filistowicz A., Przysiecki P., Zatoń-Dobrowolska M., Zajączkowska A., Świ-toński M.: Effect of karyotype polymorphism on reproduction of arctic fox (*Alopex lagopus*). *Czech J. Anim. Sci.* 2001, 46, 55-61.

8. Juneja R. K., Gahne B.: Polymorphic plasma postalbumins of some domestic animals (pig PO2, horse Xk and dog Pa proteins) identified as homologous to human plasma α_2 B-glycoprotein. *Anim. Gen.* 1987, 18, 119-124.
9. Juneja R. K., Niimi T., Lohi O., Larsen B., Gahne B.: Genetic polymorphism of plasma α_2 B-glycoprotein and transferrin in arctic and silver foxes. *Anim. Gen.* 1988, 19, 237-244.
10. Juneja R. K., Niimi T., Larsson H. E. B., Gahne B.: Three new plasma protein polymorphisms in domestic foxes, detected by a simple method of 2D horizontal electrophoresis. *Hereditas* 1989, 110, 159-164.
11. Karlińska M., Karliński W.: STAT-GEN, Przedsiębiorstwo Zastosowań Informatycznych ProSoft Sp. z o.o., Kielce 1994.
12. Krośnicka-Bombala B.: Wpływ pory roku i umaszczenia na zawartość pigmentu oraz mikro- i makroelementów w okrywie owiecej i kóz o różnym umaszczeniu. *Zesz. Nauk. Przegł. Hod.* 1996, 23, 117-132.
13. Lude J. A., Murray N. D., Marks C. A., Robinson N. A.: Microsatellite differentiation between Philip Island and mainland Australian populations of the red fox *Vulpes vulpes*. *Molec. Ecology* 1996, 5, 81-87.
14. Laemmli U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970, 227, 680-685.
15. Madeyska-Lewandowska A., Brzostowski M.: Badanie elektroforetyczne surowicy krwi oraz plazmy nasienia lisów srebrzystych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 1983, 302, 41-45.
16. Madeyska-Lewandowska A., Magnac Ch., Zdunkiewicz T.: Blood protein polymorphism in polish foxes. *Norwegian J. Agric. Sci.* 1992, Suppl. 9, 190-195.
17. Madeyska-Lewandowska A., Kuryl J., Zdunkiewicz T.: Polymorphism of blood serum proteins in the fox. *Anim. Sci. Papers Reports* 1994, 12, 73-77.
18. Nei M.: Genetic distance between populations. *Am. Naturalist* 1972, 106, 283-292.
19. Nei M., Roychoudhury A. K.: Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics* 1974, 76, 379-390.
20. Niimi T., Simonsen V., Larsen B., Lohi O.: Genetic variation in arctic foxes and in silver foxes from different farms. *Norwegian J. Agric. Sci.* 1992, Suppl. 9, 99-104.
21. Ott J.: *Analysis of Human Genetic Linkage*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, London 1991.
22. Rintamäki M., Tähtinen J.: Genetic diversity of farmed Finnish silver fox (*Vulpes vulpes*). *Scientific* 2000, 24, 114-119.
23. Roy M. S., Geffen E., Smith D., Ostrander E., Wayne R. K.: Patterns of differentiation and hybridization in North American Wolflike Canids, revealed by analysis of microsatellite loci. *Molec. Biol. Evol.* 1994, 11, 553-570.
24. SAS Institute Inc.: *SAS/STAT® User's Guide*, Version 6, Cary, NC: SAS Institute Inc., USA, 1989.
25. Serov O. L., Zakijan S. M., Khlebodarova T. M., Korochkin L. I.: Allelic expression in intergenetic fox hybrids (*Alopex lagopus* x *Vulpes vulpes*). I. Comparative electrophoretic studies on blood enzymes and proteins in arctic and silver foxes. *Biochem. Gen.* 1976, 14, 1091-1103.
26. Sokal R. R., Sneath P. H. A.: *Principle of Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco, London 1963.
27. Świtoński M.: Polimorfizm kariotypów u niektórych gatunków z rodziny Canidae. *Post. Biol. Kom.* 1982, 9, 297-306.
28. Świtoński M., Lechniak D., Przysiecki P., Filistowicz A., Pietrzak A., Landzwojczak D.: Ocena przydatności badań nad polimorfizmem kariotypowym w selekcji lisów polarnych. I. Rozprzestrzenienie form polimorficznych oraz ich związek z oceną licencyjną, indeksem osobniczym i tempem wzrostu masy ciała. *Zesz. Nauk. Przegł. Hod.* 1991, 5, 11-17.
29. Wayne R. K.: Molecular evolution of the dog family. *Trend. Gen.* 1993, 9, 218-224.

Adres autora: dr inż. Magdalena Zatoń-Dobrowolska, ul. Kożuchowska 7, 51-631 Wrocław; e-mail: magda@gen.ar.wroc.pl

Studia specjalizacyjne z chirurgii weterynaryjnej

Katedra i Klinika Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu, z upoważnienia Komisji ds. Specjalizacji lekarzy weterynarii, ogłasza nabór na studia specjalizacyjne z chirurgii weterynaryjnej. Osoby zainteresowane mogą zgłaszać się do dnia 30 września 2003 r. Przewidujemy rozpoczęcie specjalizacji w lutym 2004 roku. Szczegółowe warunki w sprawie trybu i zasad uzyskania tytułu specjalisty przez lekarza weterynarii uregulowane zostały Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej z dnia 28 listopada 1994 roku, Dz. U. Nr 131. W myśl wyżej cytowanego Rozporządzenia warunkiem przyjęcia lekarza weterynarii na studia specjalizacyjne jest wykazanie się co najmniej 2-letnim stażem pracy zawodowej. Wniosek kandydata ubiegającego się o przyjęcie na studia specjalizacyjne powinien zawierać:

- imię i nazwisko wnioskodawcy oraz datę i miejsce urodzenia,
- określenie miejsca zamieszkania (adres, telefony, fax),
- informacje o przebiegu pracy zawodowej z podaniem zajmowanych stanowisk,
- określenie aktualnego miejsca pracy i zajmowanego stanowiska,
- informacje o ukończonych kursach specjalistycznych,
- informacje o publikacjach.

Do wniosku należy dołączyć:

- odpis dyplomu lekarza weterynarii,
- odpis zaświadczenia okręgowej izby lekarsko-weterynaryjnej o stwierdzeniu prawa do wykonywania zawodu,
- deklarację co do pokrycia kosztów specjalizacji przez lekarza weterynarii lub zatrudniającego go zakład pracy.

Podania proszę kierować bezpośrednio na adres:

Katedra i Klinika Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej we Wrocławiu, 50-366 Wrocław, pl. Grunwaldzki 51, do dnia 30. 09. 2003 r.

Jednym z warunków przyjęcia na studia będzie kolejność zgłoszeń kandydatów. Ilość miejsc ograniczona.

Osoby zainteresowane specjalizacją z chirurgii mogą uzyskać informację w tej sprawie w Katedrze i Klinice Chirurgii Wydz. Med. Wet. AR we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 51, tel. 071-320 5-3 50, 071-320 53 55.