

GENOMSKA SELEKCIJA U GOVEDARSTVU

Andrijana Kegalj, M. Konjačić, Marija Vrdoljak, Marina Krvavica

Sažetak

Genetski programi u govedarstvu su vrlo uspješni u poboljšanju produktivnosti populacije mliječnih goveda tijekom posljednjih 50 godina. Genomska selekcija je novi alat za pomoć u govedarskoj industriji kako bi se dobile pouzdanije uzgojne vrijednosti mladih jedinki (osobito bikova). Genomska uzgojna vrijednost se može izračunati za oba spola u ranoj fazi života, a time i genomska selekcija može povećati profitabilnost i ubrzati genetsku dobit u uzgoju mliječnih goveda smanjenjem generacijskog intervala i troškova uzgoja bikova. Najveća točnost genomske procjene postignuta je na Holstein govedima, iako su dobri rezultati postignuti i kod pasmina Jersey i smeđeg goveda. Danas, uzgajivači koriste genomsku selekciju kao preliminarnu selekciju za mlade bikove. Kao vrlo pozitivna strana selekcije ističe se činjenica da se smanjenjem broja mladih bikova trošak uzgoja smanjuje. Pored većeg genetskog napretka, genomska selekcija omogućava i bolju kontrolu porijekla i sprečavanje uzgoja u rodstvu, te poboljšanje svojstava sa niskom heritabilnošću.

Ključne riječi: genomska uzgojna vrijednost, genomska selekcija, mononukleotidni polimorfizam, markeri

Uvod

Selekcija (lat. *selectio*=izbor, odabiranje) ili odabir predstavlja uzgojni postupak kojim uzgajatelj odabire roditeljske parove budućih generacija. Selekcija je u slobodnoj prirodi omogućila opstanak i usavršavanje pojedinih vrsta, dok je u stočarskoj znanosti i proizvodnji omogućila poboljšanje brojnih primitivnih pasmina stoke te stvaranje novih plemenitih pasmina i sojeva. Prirodna selekcija je najčešće negativna jer daje prednost prilagođenijim i otpornijim genotipovima, te preživljavaju otpornije jedinice s nižom proizvodnjom. Umjetnom selekcijom uzgajivač može od domaćih životinja dobiti više i proizvesti bolje proizvode. Od davnina čovjek pokušava „poboljšati“ određene uzgojne vrijednosti domaćih životinja, pa svjesno primjenjuje selekciju unutar populacije stoke odlučujući koja će grla koristiti za rasplod i u kojem opsegu (Mitić i sur., 1987; Uremović i sur., 2002; Ivanković, 2012). Genetsko poboljšanje kvantitativnih osobina jedan je od najznačajnijih zadataka uzgajivača goveda. Cilj genetskog poboljšanja je stvaranje nasljedne osnove za veću i kvalitetniju proizvodnju mlijeka i mesa po grlu, uz smanjenje rada i sredstava po jedinici proizvoda (Mitić i sur., 1987).

Uzgojna vrijednost

Uzgojna vrijednost (UV) jedinice je učinak genskih informacija koje rasplodno grlo prenosi na potomstvo (Caput, 1996). Kod određivanja uzgojne vrijednosti gleda se prosjek populacije, odnosno relativno ili apsolutno odstupanje pojedine jedinice od tog prosjeka. Jedan od najstarijih načina poboljšanja uzgojne vrijednosti životinja je parenje „najboljih“ životinja. U 19. stoljeću uzgojni rad u govedarstvu se temeljio samo na rodovniku i fenotipu krava i bikova.

Andrijana Kegalj, dipl. ing.med. biokemije, dr.sc. Marina Krvavica, Marija Vrdoljak, dipl.ing. agr. Veleučilište „Marko Marulić“, Kralja Petra Krešimira IV br. 30, 22300, Knin, Hrvatska; tel: ++385 (0) 22 668 123; e-mail:akegalj@veleknin.hr
Doc.dr.sc.Miljenko Konjačić, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za specijalno stočarstvo, Svetošimunska c. 25, 10040 Zagreb

Nakon toga se odabir mladih bikova sa najvišom genetskom sposobnošću temeljio na roditeljskom prosjeku što je prosječna procjenjena uzgojna vrijednost njegova oca i majke, a imao je pouzdanost svega 30 do 40 %. Sedamdesetih godina dvadesetog stoljeća uzgojni rad se temeljio na progenom testiranju u kojem se uzgojne vrijednosti bika procjenjuju na temelju praćenja proizvodnosti njegovih potomaka (Ivanković, 2012). U govedarstvu se progeni test provodi na svojstva mliječnosti i tovnosti. Uzgojna vrijednost bika za mliječnost prosuđuje se na temelju odstupanja u proizvodnji mlijeka njegovih kćeri od prosjeka vršnjakinja (Uremović i sur., 2002). Tijekom zadnja dva desetljeća dvadesetog stoljeća dolazi do brzog razvoja molekularne genetike, intenzivira se proučavanje strukture i funkcije gena što dovodi do boljeg razumijevanja djelovanja nasljedne osnove i do razvoja genomske selekcije u stočarstvu (Ivanković, 2005; Ivanković, 2012).

Progeno testiranje

U programu progenog testiranja, najprije se odabire skupina elitnih krava kao potencijalnih majki mladih bikova. Progeno testiranje je potrebno zbog toga što su većina svojstava koja su važna u gospodarstvu (npr. mliječnost) spolno-vezana svojstva i mogu se mjeriti samo u ženki. Ove elitne krave se pare sa elitnim očevima koji su progeno testirani u prethodnoj generaciji za određeno (dotično) svojstvo. Nakon što ti mladi bikovi dosegnu spolnu zrelost, obično oko 12 mjeseci starosti, oni se pare sa velikim brojem krava na komercijalnim poljoprivrednim gospodarstvima s ciljem proizvodnje oko 100 kćeri. Oko 3 godine kasnije, kćeri tih mladih bikova započinju sa laktacijom. Dobiveni podaci o mliječnosti kćeri se koriste za izračunavanje UV njihovih očeva s pouzdanošću od 75 do 85 %. Tada su bikovi-očevi stari oko 4,5 godina, te centri koji se bave umjetnim osjemenjivanjem odlučuju koji će bikovi biti izlučeni, a koji će se upotrebljavati za rasplod. Progeno testiranje je dugotrajan i skup proces u kojem se genetske procjene čekaju godinama, stotine bikova „ostaju u čekanju“ dok se u međuvremenu fenotipovi mjere na desecima tisuća njihovih kćeri (Scheffers i Weigel, 2012). Ukupna vrijednost dobivenih gena se izražava u obliku indeksa kao i UV. Potrebno je najmanje pet godina da bi se dobili rezultati, odnosno prvi indeksi (Calus i sur., 2009b). Prema Ivankoviću (2012) negativne strane progenog testiranja su slijedeće: dugo je razdoblje do prvih rezultata, dug je generacijski interval, sporo je i skupo testiranje bikova, te je nemoguće brzo preusmjeravanje uzgojnih ciljeva.

Ovaj dugotrajan proces moguće je skratiti genomskom selekcijom. Određivanjem genetskih markera već u prvom mjesecu života moguće je odrediti da li je tele naslijedilo određene poželjne gene. Mnogi markeri su testirani, ali samo oni koji su imali dovoljnu prediktivnu vrijednost rutinski se koriste u uzgojnom programu (Calus i sur., 2009b).

Genomska selekcija

Ideja iskorištavanja genetskih markera u stočarstvu pojavila se 1983. godine, a u devedesetim je razvijena selekcija podržana markerima, odnosno MAS (eng. *marker assisted (aided) selection*). S obzirom na relativno malen broj markera koji su tada bili na raspolaganju, uporaba MAS metode je bila ograničena, ali ipak je imala pozitivan učinak u selekcijskom radu. Na osnovu ove metode bio je odabran bik Ha-Ho Cubby Manfred koji je ostavio veliki utjecaj na kasnije generacije holsteina, kako izravno tako i preko svojih sinova. Nedostatci MAS metode jesu u činjenici da koristi mali broj markera za određene osobine te poduže trajanje same metode. Kod korištenja ove metode bitno je usmjeriti se na određen broj specifičnih markera koji imaju konkretan utjecaj na tražene osobine. Da bi zadovoljila takve zahtjeve tehnologija mora biti točna, brza i efikasna, te prihvatljive cijene (http://www.crsh.hr/files/0587_1_katalogbikovi2011_rujan_238_2.pdf). Najbolja linearna nepristrana procjena, odnosno BLUP (eng. *best linear unbiased prediction*) je statistička metoda koja je prvi put je primjenjena 1970-tih, a danas je standardna za genetsku procjenu stoke na sva svojstva (Tier i sur., 2007). BLUP metoda uzima u obzir sve raspoložive informacije o svojstvima predaka, vlastitim svojstvima, te svojstvima srodnika i potomaka, kao i utjecaj vanjskih čimbenika na ta svojstva (Uremović i sur., 2002). Prema Calusu (2009) nedostatci ove metodu za procjenu uzgojne vrijednost su slijedeći:

1. nužne su fenotipske informacije same jedinke ili bliskih srodnika kako bi se što točnije procijenila uzgojna vrijednost životinje-kandidata;
2. BLUP favorizira bliske srodnike što dovodi do povećanja inbreedinga i
3. BLUP pretpostavlja da beskonačni broj gena s malim učinkom utječe na određeno svojstvo.

Prekretnica u korištenju genetike u selekciji goveda bila je 2001. godine kada su napredne tehnologije omogućile kartiranje genoma, te stvorile uvjete za korištenje markera u selekciji cijelokupne populacije goveda

(http://www.crsh.hr/files/0587_1_katalogbikovi2011_rujan_238_2.pdf). Do danas su najbolje kompletirane genske karte svinja i goveda (Savić i sur., 2002).

Genski marker

Već 80-tih godina prošlog stoljeća bilo je poznato da se neki lokusi na genomu mogu koristiti kao markeri za obližnje lokuse koji utječu na kvantitativna svojstva (Tier i sur., 2007). Procjena uzgojne vrijednosti ovisi o poznavanju odnosa između jedinki. Definiranje genetskih veza između jedinki omogućava procjenu udjela fenotipske varijance koja se nasljeđuje. Određeni, manji broj uzgojnih svojstava je monogenski i relativno lako ih je locirati. Na takva monogenska proizvodna svojstva može se vrlo učinkovito djelovati pomoću MAS metode ugradnjom odgovarajućih genskih markera (Matulić i sur. 2009; Ivanković, 2012). Genomskom selekcijom moguće je jeftino genotipiziranje jedinke neovisno o dobi i spolu, te izračunavanje uzgojne vrijednosti muške i ženske

teladi već u dobi od nekoliko tjedana (Ivanković, 2012). Većina uzgojnih svojstava životinja su kvantitativna (poligena) svojstva, odnosno pod kontrolom su većeg broja gena. Istraživanjem vezanosti molekularnogenetičkih markera s poligenским proizvodnim značajkama u nekim slučajevima uočene su značajne veze alelnih varijanti s kvantitativnim odlikama svojstava zbog čega se takvi lokusi nazivaju QTL lokusima (engl. *Quantitative Trait Loci*) ili indirektni kvantitativni genski markeri (Matulić i sur. 2009). Genski markeri predstavljaju genetske razlike između pojedinih organizama ili vrsta. Oni ne predstavljaju ciljne gene, ali djeluju kao markeri (biljezi), nalaze se u neposrednoj blizini ciljnih gena ili su „povezani“ na gene koji kontroliraju ta svojstva, te ne utječu na fenotipska svojstva. Razlikuju se tri tipa genskih markera:

- morfološki (vidljivi),
- biokemijski i
- DNA (molekularni) koji su i najčešće korištena vrsta markera.

DNA markeri su prepoznatljivo mjesto na kromosomu čije se nasljeđivanje može pratiti. Markeri mogu biti geni ili češće neki segment DNA nepoznatog kodiranja, ali čije se nasljeđivanje može pratiti. DNA markeri nastaju zbog brojnih mutacija unutar DNA molekule kao što su točkaste mutacije, različite delecije ili insercije, te greške pri replikaciji DNA. Neutralni su, odnosno nisu nosioci gena jer se najčešće nalaze na nekodirajućoj regiji DNA. Neograničeni su u broju i za razliku od biokemijskih i morfoloških markera na njih ne utječu okolišni čimbenici (Collard i sur., 2005). Najčešće se kao markeri koriste genetički polimorfizmi, pogotovo u istraživanjima kojima je cilj pronalaženje gena nositelja nekog svojstva ili bolesti. Danas su najveću primjenu našli mikrosatelitni biljezi (engl. *short tandem repeat*, STR) i polimorfizmi jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP), iako postoje i druge vrste varijabilnosti u genomu (Zgaga, 2011). Poznato je oko 50 000 markera u govedem genomu. Svaka jedinka ima dvije kopije svakog od 50.000 markera. SNP markeri predstavljaju jednu osnovnu promjenu u DNA slijedu krave ili bika - slijedu koji se sastoji od oko 3 milijarde parova baza raspoređenih na 30 parova kromosoma (Cassell, 2010). Kombinacija markera cijelog genoma je jedinstvena za svaku jedinku i ne mijenja se tijekom njenog života. Veliki broj markera i činjenica da su raspoređeni duž cijelog genoma osigurava da se barem jedan marker nalazi u neposrednoj blizini ciljnog gena. Na taj način, markeri „obilježavaju“ gene.

Otkrivanje QTL-a

Genomska selekcija se temelji na istodobnom izboru mnogo tisuća jednonukleotidnih polimorfizama koji gusto pokrivaju cijeli genom te na iskorištavanju neravnoteže vezanosti gena ili LD-u (eng. *linkage disequilibrium*) između SNP-a i QTL-a (Berry i sur., 2009). Neravnoteža vezanosti gena, odnosno LD je pretpostavka da su učinci kromosomskih segmenata isti u cijeloj populaciji, jer su markeri u LD-u s QTL-om. Stoga, gustoća markera mora biti dovoljno velika kako bi osigurala da su svi QTL-ovi u LD-u s markerom ili haplotipovima markera. Genomska selekcija

se provodi u dva koraka: procjena učinaka kromosomskih segmenata u referentnoj populaciji (1) i predviđanje genomske uzgojne vrijednosti (GUV) za jedinke koje nisu u referentnoj populaciji (2). Razlikuju se dva pristupa za otkrivanje QTL:

1. Analiza kandidatskih gena (eng. *the candidate gene approach*) pretpostavlja da gen koji sudjeluje u fiziologiji određenog svojstva mutacijom uzrokuje varijaciju tog svojstva. Gen ili dijelovi gena su sekvencionirani kod brojnih jedinki i sve moguće varijacije u DNA slijedu uspoređuju se sa varijacijama fenotipskih svojstava. Postoje dva problema u ovom pristupu. Prvo, mora biti sekvencioniran veliki broj gena koji utječu na promatrano svojstvo na velikom broju jedinki. Drugo, mutacija se može dogoditi na genu koji *a priori* nije smatran očitim kandidatom za promatrano svojstvo (Hayes, 2007).

2. Kartiranje QTL-a u kojem se identificiraju područja kromosoma koja su povezana sa varijacijama fenotipskih svojstava. QTL kartiranje podrazumijeva da nisu identificirani geni koji utječu na kvantitativne osobine. Umjesto toga, ovaj pristup koristi neutralne DNA markere i traži povezanost između varijacije alela na markerima i varijacije kvantitativnih svojstava. Kada su DNA markeri dostupni, oni se koriste kako bi se utvrdilo da li je varijacija na molekularnoj razini povezana s varijacijom kvantitativnih osobina. Ukoliko se dokaže povezanost tada se zna da je marker povezan sa kromosomom ili se nalazi na istom kromosomu kao i QTL (Hayes, 2007). Dva su glavna načina kartiranja:

- izrada genske mape ili mape vezanosti (eng. *linkage map*) koja koristi učestalost mejotičkih rekombinacija između lokusa kako bi se procijenila udaljenost između lokusa i
- izrada fizičke karte kojom se utvrđuje stvarna, fizička lokacija gena na kromosomu (Škarić-Jurić, 2007).

Kartiranje QTL-a se postiže pretragom čitavog genoma (eng. *genome wide scan*) u kojem se odabire mnoštvo markera koji su ravnomjerno raspoređeni duž čitavog genoma i može se naći poveznica između svojstva i gena za koje se ranije nije smatralo da pridonose tom svojstvu (Hayes, 2007). Meuwissen i sur. (2001) su ovu metodu nazvali genomska selekcija. Isti autori su zaključili da je korištenjem guste karte markera koja pokriva sve kromosome moguće precizno procijeniti uzgojnu vrijednost jedinki koje nemaju vlastite fenotipske podatke i koje su bez potomstva. Rana primjena QTL kartiranja je imala nedostatak zbog toga što su još uvijek bili potrebni fenotipski podatci same jedinke-kandidata ili njenih bliskih srodnika jer se koristila mapa vezanosti. Danas, mapa vezanosti predstavlja prvu fazu grubog kartiranja. Novija metoda kartiranja gena, odnosno QTL-a se oslanja na neravnotežu vezanosti gena koja se provodi na populacijskim uzorcima i služi kao metoda u finom kartiranju QTL-a. Metoda pretpostavlja da su dva lokusa povezana, te da će specifična kombinacija alela na tim lokusima biti zajedno prenošena unutar obitelji. Ova pretpostavka vrijedi kada je fizička udaljenost između markera i QTL-a koji su u LD-u mala. S povećanjem udaljenosti između dvaju lokusa koji su u LD-u, vjerojatnost rekombinacije se povećava, a time se smanjuje točnost predviđanja pomoću SNP-a (Calus, 2009).

Genomska uzgojna vrijednost

Danas se sve više, poglavito kod goveda, izbor kandidata za rasplod temelji na genomskoj uzgojnoj vrijednosti (GUV) umjesto na procjenjenoj UV dobivenoj na osnovu progenog testiranja. Daljnji razvoj metodologije i povećanje dostupnosti genotipova dovesti će do povećanja pouzdanosti GUV-a (Patry i Ducrocq, 2011). Ključno pitanje kod određivanja GUV-a je procjena učinaka pojedinih SNP alela na tražena svojstva. Procjenom učinka svakog markera na prosjek, a potom zbrajanjem kumulativnih učinaka svih markera dobije se genomska uzgojna vrijednost (GUV). Ovi SNP učinci se procjenjuju korištenjem referentne populacije koja se sastoji od najmanje 1 000 bikova koji imaju točno određene uzgojne vrijednosti (na temelju podataka od svojih kćeri) i za koje je poznato svih 50.000 markera. Određuju se učinci svakog markera na određeno svojstvo koji se uspoređuju sa prosjekom, potom se zbrajaju za svaku jedinku, te se na taj način dobije GS indeks (Calus i sur., 2009b; Veerkamp i Calus, 2009). Fenotipske informacije mogu biti dobivene iz fenotipskih performansi samih jedinki iz referentne populacije, ali i iz UV-i. Povezujući genotipske i fenotipske informacije dobije se procjena za svaki SNP. Nakon toga slijedi genotipiziranje mladih jedinki za odabir kandidata čiji su GUV-i dobivene zbrajanjem svih relevantnih SNP učinaka. Za odabir jedinki koje će biti uključene u referentnu populaciju postoji nekoliko pristupa. Najizravniji pristup koristi dokazane bikove koji imaju pouzdanu UV iz koje se mogu dobiti pouzdani neregresijski dokazi. Ovaj pristup je očigledan izbor kada je dobivanje pouzdanih fenotipova dugotrajno i skupo u usporedbi s troškovima genotipiziranja. Osim toga, mladi kandidati za odabir mogu biti bliski srodnici (kao potomstvo) fenotipiziranih životinja u referentnoj populaciji što povećava pouzdanost UV-i. Kada se životinje za odabir referentne populacije trebaju genotipizirati i fenotipizirati, a troškovi fenotipiziranja su niski u usporedbi sa genotipizacijskim troškovima, trošak oblikovanja referentne populacija može se optimizirati. Optimalna referentna populacija treba obuhvatiti cijelu paletu fenotipova i genotipova kako bi se omogućila što veća pouzdanost procjene preko tih raspona. Međutim, to nije moguće u praksi, tako da referentna populacija treba biti projektirana tako da odražava što veći niz raspona fenotipova i genotipova (Calus, 2009). Prema Habieru i sur. (2007) predviđanje GUV-i je pouzdanije kada mlade jedinke dijele rodovnik sa jedinkama iz referentne populacije, te je optimalna strategija za odabir referentne populacije ta da jedinke za izradu referentne populacije budu genetski usko povezane sa mladim jedinkama- kandidatima. Uporaba molekularnih markera za predviđanje genetske sposobnosti osigurava bržu genetsku dobit u usporedbi sa samo tradicionalnim odabirom (Meuwissen i sur., 2001). Međutim, prema Jandi (2011) UV-i bikova koji su konvencionalno testirani još uvijek imaju i do 75 % višu pouzdanost u odnosu na pouzdanost GUV-i mladih bikova. Jedan od problema kod uzgojne selekcije je taj što je još uvijek malen broj životinja koje su genotipizirane, pa je veliki problem kombinirati genomske i negenomske podatke svih jedinki, bez obzira da li su genotipizirane ili ne. Osim toga, neke jedinke imaju UV i GUV, neke samo UV što stvara pomutnju pri odabiru najprikladnije jedinke kako

stočarima tako i centrima za reprodukciju. Ipak, poželjno je koristiti sve dostupne informacije: genomske, fenotipske ili rodovnike za procjenu aditivne genetske vrijednosti bilo koje jedinke (Patry i Ducrocq, 2011). Točnost genomskih procjena ovisi o broju fenotipova koji se koriste, heritabilnosti svojstva, efektivnoj veličini populacije, stupnju odnosa između selekcijskog kandidata i referentne populacije, veličini genoma, gustoći markera i genetskoj arhitekturi svojstva, o određenom broju lokusa koji utječu na svojstvo i distribuciju njihovih učinaka (Rogers i sur., 2008; Hayes i sur., 2010). Genotipiziranjem mladih jedinki dobiju se pouzdanije genetske ocjene nego je ranije bilo moguće s roditeljskim prosjekom (Sullivan, 2009). Do danas je više od 50.000 mliječnih goveda u svijetu genotipizirano na 50.000 markera. Uzgajivači, na svjetskoj razini, mogu odabrati najbolju jedinku, ukoliko su nacionalne procjene svojstva usporedive sa svojstvima na svjetskoj razini. Fenotipovi se prikupljaju, pohranjuju i ocjenjuju samostalno u svakoj zemlji, što rezultira dobivanjem procijenjene UV. Podatci se razmjenjuju i kombiniraju preko Interbull-a (međunarodna organizacija koja je odgovorna za međunarodno genetsko vrednovanje bikova). Za sada, međunarodno ocjenjivanje ne uključuje mlade bikove i ženke, iako bi to bilo potrebno jer bi se na taj način povećala pouzdanost GUV-a i napredak selekcije (VanRaden i Sullivan, 2010). Jedan od glavnih izazova GS je taj što je broj markera često mnogo veći od broja raspoloživih fenotipova za procjenu njihovih učinaka (Habier i sur., 2009). U primjeni su različiti statistički modeli za izračun pouzdanosti GUV-a (Calus i sur., 2009b; Veerkamp i Calus, 2009). Benjamin i Nicola (2004) predlažu regresiju glavnih komponenti; Habier i sur. (2007) stupnjevitu regresijsku analizu, Moser i sur. (2007) metodu djelomičnih najmanjih kvadrata, dok Bayesovu metodu predlažu Meuwissen i sur. (2001), te Xu (2003). Prema Habieru i sur. (2009) Meuwissen i sur. (2001), te Habier i sur. (2007) su proveli simultane studije kojima su uspoređivali navedene statističke metode, te su utvrdili da je Bayesova metoda najpouzdanija.

Korištenjem simulacije, Meuwissen i sur. (2001) su pokazali da je s kartom markera visoke gustoće koja pokriva sve kromosome moguće točno procijeniti UV jedinke bez prethodnih podataka o njihovom fenotipu ili bliskom srodniku. Wiggans i sur. (2011) su zaključili da se markerima visoke gustoće mogu pratiti lokusi odgovorni za genetske razlike, dok se korištenjem markera niske gustoće povećava broj genotipiziranih jedinki. Također smatraju da će markeri male gustoće zamijeniti mikrosatelite u provjeri podrijetla jedinki. SNP-om visoke gustoće genotipiziraju se svi selekcijski kandidati svake generacije, međutim, troškovi postupka su znatni. Mogu se koristiti manji paneli sa SNP-om koji su u vezi sa promatranim fenotipom, ali to zahtijeva posebni SNP za svako svojstvo i za svaku populaciju. Kao alternativa, predlaže se korištenje panela SNP-a niske gustoće ravnomjerno raspoređenih preko genoma za određivanje GUV-a selekcijskih kandidata sa rodovnikom. Princip ovog pristupa je koristiti informacije iz SNP-a niske gustoće, te pratiti učinke SNP-a alela visoke gustoće unutar obitelji (Habier i sur., 2009). GUV se može izračunati za oba spola u ranoj fazi života, a time i GS može povećati profitabilnost i ubrzati genetsku dobit u uzgoju mliječnih goveda smanjenjem generacijskog intervala i troškova dokazanih

bikovi. To dovodi do restrukturiranja sheme uzgoja mliječnih goveda, od kojih se mnoge još uvijek oslanjaju na progeno testiranje očeva i na evidentiranju stotine tisuća i često milijuna krava (Moser i sur., 2009). Najveća prednost genomske selekcije je potencijal za procijeniti GUV s visokom točnošću tijekom nekoliko generacija bez ponovnog fenotipiziranja, što rezultira nižim troškovima i kraćim intervalima generacije. Ovaj pristup zahtijeva LD lokusa markera i QTL-a, u protivnom se očekuje brzo smanjenje točnosti u generacijama (Habier i sur., 2007). Implementacija MAS-a je moguća primjenom QTL kartiranja. Otkrivaju se QTL koji imaju veliki utjecaj na svojstva te se praćenjem tih lokusa povećava pouzdanost predviđanja UV prije nego što su fenotipske informacije dostupne. Heritabilnost i gustoća markera imaju veliki utjecaj na pouzdanost GUV-a. Kad je referentna populacija sastavljena samo iz jedne populacije pouzdanost GUV-a u drugoj populaciji je znatno manja nego u referentnoj. Kada se relativno mali broj jedinki druge populacije doda referentnoj, pouzdanost u drugoj populaciji se znatno povećava bez obzira na heritabilnost svojstva i gustoću markera. Prednost kombiniranja više populacija u jednu referentnu je najveća kada se spomenute populacije razilaze za samo nekoliko generacija, te kada je gustoća marker velika, a heritabilnost niska (de Ross i sur., 2009).

Neravnoteža vezanosti gena (LD)

Cilj genomske selekcije (GS), kao što je opisano u Meuwissen i sur. (2001) je iskoristiti povezanost neravnoteže između QTL-a i markera visoke gustoće preko genoma za procjenu uzgojne vrijednosti u programu genetskog poboljšanja stoke. Za provedbu GS, učinak SNP-a visoke gustoće procjenjuje se na osnovu jedinki koje su genotipizirane i fenotipizirane za QTL (Habier i sur., 2009). Prema de Roos i sur. (2008) kada su genetski marker i QTL u LD-u u jednoj populaciji, ne moraju biti u drugoj populaciji ili njihova LD faza može biti poništena. Dokazali su da za predviđanje GUV-a za Jersey pasminu preko jednadžbe predviđanja za Holstein referentnu populaciju je potrebno barem 300 000 SNP, a trenutno je dostupno 50 000 koliko ih je dovoljno za predviđanje GUV-a unutar iste populacije. Vrijednost markera u populacijama koje nisu referentne će ovisiti o postojanosti LD faze između referentne populacije i te druge populacije. Na primjer, marker koji je identificiran kao LD marker u Holstein-frizijskoj pasmini ne mora biti u LD-u sa QTL-om Jersey pasmini. LD faza se može uspoređivati između dvije populacije na različitim nivoima, npr. između različitih pasmina ili između različitih populacija iste pasmine, ali različitih generacija. Ako marker i QTL nisu u LD-u kod kandidata za genomsku selekciju, odabir markera neće dovesti do genetskog poboljšanja, a genetski odgovor može biti čak i negativan. Vjerojatno je da će LD biti različit za različite populacije ukoliko je između populacija veliki generacijski interval, ako je veličina populacije mala i ako je udaljenost između markera i QTL-a velika. Ovi čimbenici dovode do poništavanja LD-a predaka sadašnje populacije ili do stvaranja novog LD-a unutar iste populacije (de Roos i sur., 2008). Na pouzdanost GUV-a važan učinak ima gustoća markera, jer veći broj markera jednako raspoređenih uzduž genoma povećava vjerojatnost da je

svaki QTL u visokom LD-u s najmanje jednim markerom (Godard 2009). Samo markeri koji su vrlo blizu QTL-a mogu imati trajan LD sa QTL-om unutar pasmine i soja. Na primjer, kod *Bos taurus* pasmine goveda, LD je trajan za parove markera koji su udaljeni manje od 10 kb. Povezanost markera sa svojstvom otkrivenu u prvoj populaciji potrebno je potvrditi u nezavisnoj populaciji kako bi se mogla primjenjivati u genomskoj selekciji. Često su takvi pokušaji potvrde bili neuspješni iz nekog od slijedećih razloga:

- izvorno otkriće bilo je lažno pozitivno,
- povezanost je specifična za tu pasminu ili se QTL ne odvaja u drugoj pasmini ili zato što se faza ili snaga LD-a razlikuje između pasmina, ili
- postoji nedostatak statističkog značaja u ocjenjivanoj populaciji ili u prethodno ocijenjenoj populaciji, ili u obje populacije (Bolormaa i sur., 2011).

Genomski testovi utječu na genetsku procjenu bilo kojeg bika na kojem je izvršeno testiranje, dok je utjecaj na ocjenu i točnost najveća za mlade bikove koji nemaju podatke progenog testiranja. Testovi se mogu provoditi već prilikom telenja jedinke, ili čak i ranije ukoliko se može uzeti uzorak. Prednost primjene genomske pretrage je znatno pouzdanija genetska procjena mladih mliječnih bikova u usporedbi sa prethodno primjenjivanim procjenama genetske vrijednosti koje su se temeljile na prosječnim dokazima o roditeljima. Najveća točnost genomske procjene postignuta je na Holstein govedima. Naime, stvaranju osnove za razvoj jednadžbi za predviđanje doprinio je velik broj starih bikova na kojima su rađene genomske pretrage i njihovo mnogobrojno potomstvo. Zadovoljavajući rezultati postignuti su i kod pasmine Jersey i smeđeg goveda (Cassell, 2010). Genomske procjene povećavaju pouzdanost selekcije bez obzira na dob bika. Za bikove s prvom generacijom potomstva, genomske procjene povećavaju pouzdanost za oko 3 %. Slične SNP sekvence između roditelja i potomaka mogu biti korisne za procjenu genetske vrijednosti mladih jedinki koje još nisu dovoljno stare da bi imale vlastito potomstvo. Prednost genomskog skeniranja je u tome što se provodi na vrlo mladim jedinkama – prije njihove uporabe za rasplod, te bez rezultata progenog testiranja (Weigel, 2010). Genomskim skeniranjem određuju se razlike u SNP-ovima između pojedinačnih jedinki. Test se izvodi pažljivo projektiranim čipovima koji izgledaju kao mikroskopska stakalca čija je svrha otkriti vrlo male komadiće DNA iz uzoraka tkiva, krvi ili sjemena jedinke (Weigel, 2010; Siedel, 2010). Genomska procjena goveda koja se temelji na 42 503 SNP-ova je dostupna od 2007. godine, dok su prve službene genomske procjene za Holstein, Jersey i smeđe govedo u SAD-u objavljene 2009. godine (Wiggans i sur., 2011). Genetsko poboljšanje će se gotovo udvostručiti ukoliko se uz postojeće metode genetskog vrednovanja koriste i SNP informacije. Genotipizacija SNP markera je automatizirana i učinkovita za razliku od genotipizacije mikrosatelita koja zahtjeva intenzivni rad (jedan po jedan). Jednom, kada veliki broj manje ili više ravnomjerno raspoređenih genetskih markera (barem 30.000) postane dostupan za pojedinu jedinku, moguće je procijeniti njezinu uzgojnu vrijednost temeljem veze između genotipa i prinosa mlijeka, broja somatskih stanica, postotka koncepcije kćeri i drugih ključnih svojstava. Ta povezanost se procjenjuje na temelju podataka o precima, posebice progeno testiranih bikova koji

su zastupljeni u rodovniku jedinke. U prošlosti, sve što se znalo o genetskom potencijalu mlade jedinke bio je prosjek roditelja, što je prosječna predviđena genetska vrijednost njihovih roditelja, a nije bilo načina za utvrđivanje da li je jedinka naslijedila bolje ili lošije gene od prosjeka uzorka gena od svojih roditelja (Weigel, 2010; Siedel, 2010). Naime, tele naslijeđuje pola gena od oca pola od majke, ali uvijek u različitoj kombinaciji. To čini svakog potomka jedinstvenim. Koje je točno gene tele naslijedilo od kojeg roditelja koristio se sustav „mladi bikovi/bikovi u čekanju/dokazani bikovi“, odnosno progeno testiranje kojim se određuju prosječne performanse na 100 potomaka određenog bika. Pomoću tih podataka može se vidjeti da li je bik naslijedio poželjna ili nepoželjna svojstva (Calus i sur., 2009b).

U Sjevernoj Americi genotipizirani su svi bikovi odabrani za umjetno osjemenjivanje.

DNA testiranjem roditelja smanjuje se pogreška kod identifikacije kćeri koja je bila relativno česta kod tradicionalnog pristupa. Genomska informacija će imati najveći utjecaj na selekciju mladih bikova koji još nemaju potomstvo, dok će najmanje utjecati na bikove koji već imaju prvorodne progenotestirane kćeri. Genotipiziranjem se mogu razlikovati braća koja imaju isti roditeljski prosjek (Weigel, 2010). Pouzdanost tih procjena može biti i do 75 % za određeno svojstvo što odgovara pouzdanosti procjene sjemena dvogodišnjeg bika (Wiggans i sur., 2011). Prema Calusu i sur. (2009a) pouzdanost GUV-a za mlade bikove, u usporedbi sa indeksom rodovnika je veća i do 20 %. Najznačajniji doprinos genotipiziranja tako mladih jedinki je značajno smanjenje generacijskog intervala. DNA testirane jedinke mogu dobiti točne GUV prije nego što dosegnu spolnu zrelost. Na žalost, troškovi DNA testiranja za svaku jedinku su dosta visoki, te se iz tog razloga, DNA testiranje se ne provodi na svim jedinkama u populaciji nego samo na potencijalnim mladim očevima (bikovima), te na teladi i kravama za koje se smatra da će doprinijeti uzgojnom programu. Na osnovu dobivenih rezultata većina mladih bikova će biti izlučena iz uzgoja što u konačnici ipak smanjuje troškove jer se na ovaj način smanjuje broj mladih bikova koji se progeno testiraju (Rogers i sur., 2008). GS indeks mladih bikova treba imati pouzdanost usporedivu s indeksom progenog testiranja, no još uvijek nije postignuta ista razinu pouzdanosti. Pouzdanost GS indeksa će se povećati s povećanjem referentne populacije. Uzgajivači koriste GS kao preliminarnu selekciju za mlade bikove. Iz velikog broja muške teladi oni na ovaj način mogu izabrati grupu potencijalnih bikova koji će se koristiti kao mladi očevi. Istovremeno, oni najbolji (unutar 10 %) se mogu koristiti kao očevi slijedeće generacije. Smanjenjem broja mladih bikova trošak uzgoja se smanjuje (Calus i sur., 2009b). Prema Rensingu (2011) najveća prednost genomske selekcije je u poboljšanju svojstava sa niskom heritabilnošću kao što su plodnost, dugovječnost, lakoća teljenja i plodnost. U usporedbi s klasičnim progenim testom, pouzdanost genomskog testa je manja za proizvodne i eksterijerne osobine, ali je veća za lakoću teljenja (maternal), plodnost kćeri i osobito dugovječnost.

Zaključak

Genomska selekcija omogućava uzgajivačima da provjere bitne osobine životinje čak i prije njenog rođenja. Pri tom se koriste genetski markeri za ispitivanje svih relevantnih osobina, uključujući i one koje je trenutno vrlo teško izmjeriti, kao što su otpornost na bolesti, kvaliteta mesa i slično. Mladi bikovi s dobrim GUV-om uzgajivačima bi omogućili brži genetski napredak njihovih stada, a centrima za umjetno osjemenjivanje bolju isplativost proizvodnje bikova.

LITERATURA

1. Benjamin D.H., J.C. Nicola (2004): *Principal Component Analysis for Selection of Optimal SNP-Sets That Capture Intra-genetic Genetic Variation*. Genetic Epidemiology 26, 11–21.
2. Berry, D.P., F. Kearney, B.L. Harris (2009): *Genomic Selection in Ireland*, Proceedings of the Interbull International Workshop – Genomic Information in Genetic Evaluations, Uppsala, Sweden, January, 2009, 29-34.
3. Bolormaa, S., B.J. Hayes, K. Savin, R. Hawken, W. Barendse, P.F. Arthur, R.M. Herd, M.E. Goddard (2011): *Genome-wide association studies for feedlot and growth traits in cattle*. Journal of Animal Science 8, 1684-1697.
4. Calus, M.P.L. (2009): *Genomic breeding value prediction: methods and procedures*. Animal 4 (2), 157–164.
5. Calus, M.P.L., H.A. Mulder, K. Verbyla, R.F. Veerkamp (2009a): *Estimating reliabilities of Genomic breeding values*. Proceedings of the 2009 Interbull Meeting Barcelona Spain, August 2009, 198-201.
6. Calus, M.P.L., J. Bastiaansen, T. Meuwissen, R. Veerkamp (2009b): *Selection at DNA level- Genomic selection signals revolution in cattle breeding*. Cow management, 6-8.
7. Caput, P. (1996): *Govedarstvo*. Prosvjeta d.d., Bjelovar, 358.
8. Cassell, B. (2010): *Genetic Improvement Using Young Sires With Genomic Evaluations*. Dostupno na: http://pubs.ext.vt.edu/404/404-090/404-090_pdf.pdf
9. Collard, B.C.Y., M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer, E.C.K. Pang (2005): *An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts*. Euphytica 142, 169–196.
10. de Roos, A.P.W., B.J. Hayes, R.J. Spelman, M.E. Goddard (2008): *Linkage Disequilibrium and Persistence of Phase in Holstein–Friesian, Jersey and Angus Cattle*. Genetics 179, 1503–1512.
11. de Roos A.P.W., B.J. Hayes, M.E. Goddard (2009): *Reliability of genomic predictions across multiple populations*. Genetics 183, 1545–1553.
12. *Genomika-disciplina koja se najbrže razvija (2011)*. Svijet reprodukcije 4, dostupno na: http://www.crsh.hr/files/0587_1_katalogbikovi2011_rujan_238_2.pdf.
13. Goddard, M. (2009): *Genomic selection: prediction of accuracy and maximisation of long term response*. Genetica 136 (2), 245-257.
14. Habier, D., R.L. Fernando, J.C.M. Dekkers (2007): *The Impact of Genetic Relationship Information on Genome-Assisted Breeding Values*. Genetics 177, 2389–2397.

15. Habier, D., R.L. Fernando, J.C.M. Dekkers (2009): *Genomic Selection Using Low-Density Marker Panels*. Genetics 182, 343–353.
16. Hayes, B. (2007): *QTL Mapping, MAS, and Genomic Selection. A short-course*. Animal Breeding & Genetics Department of Animal Science. Iowa State University. 3-4, 66. <http://www.ans.iastate.edu/section/abg/shortcourse/notes.pdf>
17. Hayes B.J., J. Pryce, A.J. Chamberlain, P.J. Bowman, M.E. Goddard (2010): *Genetic Architecture of Complex Traits and Accuracy of Genomic Prediction: Coat Colour, Milk-Fat Percentage, and Type in Holstein Cattle as Contrasting Model Traits*. PLoS Genet 6(9): e1001139. doi:10.1371/journal.pgen.1001139.
18. Ivanković, A. (2005): *Uporaba molekularne genetike u animalnoj proizvodnji*. Stočarstvo 59(2), 121-144.
19. Ivanković, A. (2012): *Genomska selekcija u govedarstvu*. Uzgoj goveda (1848-2163) 2, 1; 12-13
20. Janda, D. (2011): *Uloga genomske selekcije u uzgoju*. Mljekarstvo 9, 4-5.
21. Matulić, D., A. Ivanković, I. Aničić (2009): *Potpomognuta selekcija u akvakulturi*. Ribarstvo 67 (1), 25-39.
22. Meuwissen, T.H.E., B.J. Hayes, M.E. Goddard (2001): *Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps*. Genetics 157, 1819–1829.
23. Mitić, N.A., J. Ferčej, D. Zeremski, Lj. Lazarević (1987): *Govedarstvo*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 543, 548.
24. Moser, G., B. Tier, R.E. Crump, J. Soelkner, K.R. Zenger (2007): *Estimation of molecular breeding values in genome wide selection using supervised dimension reduction based on partial least squares*. Članci i sažeci sa Workshop on QTL and Marker-Assisted Selection, Ožujak 2007., Toulouse, France, urednik: A. Legarra.
25. Moser, G., B. Tier, R.E. Crump, M.S. Khatkar, H.W. Raadsma (2009): *A comparison of five methods to predict genomic breeding values of dairy bulls from genome-wide SNP markers*. Genetics Selection Evolution, 41 (56).
26. Patry, C., V. Ducrocq (2011): *Accounting for genomic preselection in national BLUP evaluations in dairy cattle*. Genetics Selection Evolution, 43(30).
27. Rensing, S. (2011): *Genomics – chance for enhanced breeding programs in functional traits*. Milk Production in an Animal Welfare Friendly Environment. 29th General Assembly. Stockholm, Sweden, July 2011.
28. Rogers, G.W., C.P. Van Tassell, P.M. Van Raden, G.R. Wiggans (2008): *Four ways genomic selection will change dairy cattle genetic improvement in the near future*. Progressive Dairyman Publishing.
29. Savić, M., S. Jovanović, R. Trailović, V. Dimitrijević (2002): *Genetski monitoring u savremenom svinjarstvu*. Veterinarski glasnik 56 (1-2), 83-88.
30. Schefers, J.M., K.A. Weigel (2012): *Genomic selection in dairy cattle: Integration of DNA testing into breeding programs*. Animal Frontiers 2 (1), 4-9.
31. Siedel, G.E. (2010): *Brief introduction to whole-genome selection in cattle using single nucleotide polymorphisms*. Reproduction Fertility Development 22 (1), 138-44.
32. Sullivan, P. (2009): *Options for Combining Direct Genomic and Progeny-Test Results*. Genetic Evaluation Board Meeting, June, 2009.
33. Škarić-Jurić, D. (2007): *Kvantitativna genetika*. Predavanja, Filozofski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Studij antropologije, 71-76.
34. Tier, B., R. Crump, G. Moser, J. Sölkner, P.C. Thomson, A. Woolaston, H.W. Raadsma (2007): *Genome wide selection: issues and implications*. Proceeding of Association for the Advancement of Aand genetics 17, 308 – 311.

35. Uremović, Z., M. Uremović, V. Pavić, B. Mioč, S. Mužić, Z. Janječić (2002): *Stočarstvo*. Agronomski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, 55, 74.
36. VanRaden, P.M., P.G. Sullivan (2010): *International genomic evaluation methods for dairy cattle*. *Genetics Selection Evolution*, 42 (7).
37. Veerkamp, R, M.P.L. Calus (2009): *Genomics revolution*. *Veepromagazine* 71, 4-6.
38. Weigel. K. (2010): *Understanding Genomics and Its Applications on a Commercial Dairy Farm*. High Plains Dairy Conference. Amarillo, Texas.
39. Wiggans G.R., P.M. Vanraden, T.A. Cooper (2011): *The genomic evaluation system in the United States: past, present, future*. *Journal of Dairy Science* 94(6), 3202-11.
40. Xu, S. (2003): *Estimating Polygenic Effects Using Markers of the Entire Genome*. *Genetics* 163, 789–801.
41. Zgaga, L. (2011): *Utjecaj genomske heterozigotnosti na kompenzaciju akutnog psihološkog stresa*. Disertacija. Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu.

GENOMIC SELECTION IN CATTLE INDUSTRY

Summary

Genetic programs in cattle have been very successful in improving the productivity of dairy cattle over the last 50 years. Genomic selection is a new tool to help the cattle industry in order to obtain reliable breeding values of young individuals (particularly bulls). Genomic breeding value can be calculated for both sexes early in life, and thus the genomic selection can increase profitability and accelerate genetic improving in dairy cattle by reducing the generation interval and bulls costs. The highest accuracy of genomic evaluation was accomplished in Holstein cattle, although the good results achieved with breeds Jersey and brown cattle. Today, breeders use genomic selection as a preliminary selection of young bulls. As a very positive side selection highlights the fact that reducing the number of young bulls reduces the cost of breeding. In addition, genomic selection allows better control of origin and prevention of inbreeding and improving traits with low heritability

Key words: genomic breeding value, genomic selection, single nucleotide polymorphism markers.

Primljeno: 10.11.2015.