

UPORABA MOLEKULARNE GENETIKE U ANIMALNOJ PROIZVODNJI

A. Ivanković

Sažetak

Molekularna genetika tijekom minula dva desetljeća metodološki i aplikativno ušla je u niz ljudskih djelatnosti, a u osobitoj mjeri nalazi primjenu u proizvodnji hrane odnosno animalnoj proizvodnji. Pružajući uvid u strukturu i funkciju genoma i gena, oblikovane genetske karte domaćih životinja i genetski markeri postaju oruđe učinkovitije selekcije, unapređenja bitnih proizvodnih svojstava, eliminacije nasljednih bolesti i veće pouzdanosti u selekcijskom radu. Iznalaženje direktnih i indirektnih genetskih markera vezanih za ekonomski bitna proizvodna obilježja domaćih životinja od primarnog je interesa animalne molekularne genetike. Ugradnjom odgovarajućih genetskih markera u uzgojne programe omogućeno je biranje uzgojno pogodnih jedinki u ranoj životnoj dobi, neovisno o spolu, konstituciji, fiziološkom statusu i drugim čimbenicima, prije nego što se ekonomski bitna proizvodna svojstva uopće ispolje. Nasljedne bolesti učinkovito se otkrivaju i suzbijaju testovima direktne DNA detekcije greške koda odgovarajućih gena. Osobito je važna mogućnost otkrivanja i izlučivanja heterozigota s nasljednom greškom. Provjera postojanja određenih genskih poremećaja u nekim je slučajevima obaveza nacionalnih uzgojnih programa, te preduvjet pristupu tržištu rasplodnog materijala i animalnih proizvoda. Potvrda rodoslovlja na DNA razini setom visoko polimorfnih genetskih markera daje gotovo potpunu sigurnost u ispravnost podataka odnosno otkriva slučajne ili namjerne greške u vođenju podataka. Valjana potvrda rodoslovlja u provedbi uzgojnih programa i tržišnoj razmjeni uzgojno valjanih i uporabnih grla obaveza je svih koji žele sudjelovati u globalnim tržišnim tokovima. Neizostavna je važnost molekularne genetike u konzervaciji animalnih genetskih resursa, budući da daje temeljne spoznaje o originalnosti uzgoja, razini uzgoja u srodstvu, kontaminiranosti drugim genomima, što je osnova za postavljanje valjanih konzervacijskih uzgojnih programa. Velike su mogućnosti koje molekularna genetika pruža kroz transfer gena i oblikovanje transgenih životinja, premda su u ovom području otvorene mnoge dvojbe oko

Doc. dr. sc. Ante Ivanković, Zavod za specijalno stočarstvo, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska (kontakt e-mail: aivankovic@agr.hr)

opravdanosti postupaka i mogućih posljedica manipulacije genima. Genetski markeri učinkovito se koriste u provjeri sukladnosti, kvaliteti i kvantiteti namirnica. Molekularna genetika našla je svoje mjesto u animalnoj proizvodnji, a na nama je odgovornost razumijevanja mogućnosti, prednosti i rizika, te ugradnje u postojeće uzgojne programe u optimalnoj mjeri.

Ključne riječi: molekularna genetika, animalna proizvodnja, genski markeri

Uvod

Uzgojni se rad u selekciji domaćih životinja do nedavno temeljio isključivo na uporabi metoda kvantitativne genetike, pri čemu je varijanca fenotipskih odnosno proizvodnih obilježja populacije predstavljala temelj selekcijskog napretka. Brzi razvoj molekularne genetike tijekom dva zadnja desetljeća omogućio je direktnu analizu genoma životinja, proučavanje strukture i funkcije gena, te tako pripomogao boljem razumijevanju djelovanja nasljedne osnove. Molekularno-genetske metode omogućile su uvid u nekodogene regije genoma, koje kod sisavaca čine više od 90% DNA zapisa. Gensko kartiranje, regulacija genske ekspresije, iznalaženje genskih biljega vezanih za ekonomski bitna svojstva, transgeneza, genetska dijagnostika i provjera rodoslovlja neki su od primjera učinkovite uporabe metoda molekularne genetike u animalnoj proizvodnji. Molekularna genetika omogućava direktnu ili indirektnu detekciju željenih alelnih varijanti roditelja i potomaka, na temelju čega postaje moguće direktno odabirati grla za rasplod i korištenje, bez utjecaja spola, dobi, zdravlja, reproduktivnog statusa i okolišnih čimbenika na konačnu odluku.

Osobito interesantno za selekciju domaćih životinja je pronalaženje i lociranje genetskih markera, odgovornih za izraženost određene ekonomski bitne proizvodne odlike. Premda je većina ekonomski bitnih proizvodnih svojstava poligeneske prirode, određeni broj svojstava vezan je za djelovanje jednog ili manjeg broja gena, tako da je učinak mutacija na ovim genima u izravnoj vezi s proizvodnim svojstvom. Na takva monogenska proizvodna obilježja može se ugradnjom odgovarajućih genskih markera (direktnih biljega) u uzgojne programe veoma učinkovito djelovati (MAS, *Marker Assisted Selection*). No kako smo istakli, većina bitnih proizvodnih obilježja poligeneske je prirode, odnosno kompleksnija je veza genskih lokusa s proizvodnim odlikama, a njihova uporaba u selekcijskim programima iziskuje indirektnu kvantitativnu gensku biljege (QTL, *Quantitative Trait Loci*). Time je postalo moguće na osnovi DNA analize vršiti pouzdane prognoze proizvodnih odlika domaćih životinja, prije nego grla uopće dospiju u proizvodnu fazu. U

određenim situacijama možemo na osnovi profila genetskih markera roditelja s velikom vjerojatnošću procjenjivati proizvodne potencijale potomaka.

Genetska dijagnostika omogućava otkrivanje neposrednih uzroka pojave nasljednih bolesti, što je ključ za njihovo rano otkrivanje i primjereno postupanje. Tipizacijom tkiva ploda saznajemo za postojanje nasljednih poremećaja u ranoj fazi razvoja ploda. Testiranje roditelja u pogledu postojanja “loših” gena daje odgovor o prikladnosti određenih jedinki za uključivanje u uzgojno selekcijski rad. Informacije o genetskim različitostima bitne su u filogenetskim studijama kojima nastojimo razumjeti oblikovanje pasmina domaćih životinja u bližoj i daljnjoj prošlosti. Na pokazateljima osobitosti pasmina u fenotipskom i genetskom pogledu izgrađujemo programe očuvanja ugroženih pasmina životinja kao dijela genetskog i kulturološkog nasljeđa.

1. Genske karte kao temelj primjene molekularne genetike u animalnoj proizvodnji

Razvoj analitičkih metoda molekularne genetike potaknut je otkrićem i izolacijom termostabilne *polimeraze*, enzima koji je ostajao aktivan nakon izlaganja višim temperaturama, nužnim za razdvajanje dvostruke DNA uzvojnice na jednostruke DNA lance, nakon čega je moglo uslijediti kopiranje DNA lanaca na identične kopije. Time je stečena osnova za razvijanje lančane reakcije polimerazom (PCR, *Polymerase Chain Reaction*) kojom tijekom nekoliko desetaka uzastopnih ciklusa denaturacije, prilijevanja začetnih oligonukleotida i sinteze umnoženih DNA lanaca, kvantitativno višestruko povećavamo koncentraciju istovjetnih DNA fragmenata, čime se umnoženi DNA fragment može analitički definirati s obzirom na veličinu ili strukturu, elektroforezom na gelovima, laserskom detekcijom ili radiografijom. Zahvaljujući otkriću i usavršavanju PCR metodologije, molekularna genetika ušla je na velika vrata u svijet animalnih znanosti i animalne proizvodnje.

Da bi mogućnosti molekularne genetike uporabili na primjeren način u animalnoj proizvodnji, nužno je poznavati građu genoma domaćih životinja. Analiza strukture i funkcije gena domaćih životinja omogućava razumijevanje djelovanja, međusobnih interakcija i nasljeđivanja ekonomski važnih ali i drugih ekonomski manje bitnih svojstava. Mapiranje genoma i gena prvi je korak u razumijevanju nasljedne osnove (genetskog profila) domaćih životinja. Postojeće metodologije molekularne genetike omogućuju izoliranje interesantnih dijelova genoma i gena u uvjetima *in vitro*, njihovo umnažanje i analiziranje. Zbirke upoznatih segmenata genoma popunjavanjem prerastaju u “gensku kartu”. Što su istraženi fragmenti dulji, njihova informativnost je veća.

Većina istraživanja u pravcu kartiranja genoma kreće od *in vitro* ekspresijskih sustava, jer se tako može lako istražiti učinak kodogenih i regulatornih regija na bezstanične sustave, heterologne i homologne stanične kulture te na transgene odsječke. Upoznavanjem strukture gena kojeg istražujemo, njegovih regulatornih procesnih signala te fiziološke funkcije genskog produkta ulazimo u istraživanja gena *in vivo*. Pomoć u proučavanju genske ekspresije je u mogućnosti ugradnje hibridnih konstrukcija (*hibridnih promotora*) u genom.

Pri izradi genskih karti koristi se više tehnika za lokaliziranje gena na kromosomima, kao što su *in situ* hibridizacija metafaznih kromozoma, uporaba seta staničnih hibrida, bojenje (pruganje) kromosoma, PFGE (*pulse field gel electrophoresis*) ili mikrodisekcija kromosoma. Pruganje kromosoma prva je primijenjena tehnika u lokalizaciji gena na kromosomu. Mikrodisekcija se bazira na točnoj detekciji određene regije (isječka) genoma, odnosno pozicije lokusa na isječku. Istraživani isječci dugi su od 10 do 20 cM, izrezuju se u metafazi, nakon čega se cijepaju, sekvenciraju, a sekvence se potom slažu u genske karte.

Ako nasljedna svojstva jasno definiramo a njihov izvorni materijal je upoznat, možemo informativno kartirati osnovne gen lokuse u njihovu međusobnom odnosu, te time razumjeti nasljeđivanje određenih svojstava. Za istraživanje pasmina i populacija nužno je uz to prikazati i stanje polimorfizama, budući da ono ukazuje na varijabilnost i slijed razvoja generacija. Monomorfni geni ne mogu nam ukazati na roditeljsko ili djedovsko podrijetlo gena, budući da se međusobno ne razlikuju. Za razliku od njih, polimorfni geni su znatno važniji, informativniji i iskoristiviji u genetskoj izgradnji pasmina i populacija, određivanju varijanti vezanih za proizvodne učinke, provjeri rodoslovlja i drugom, te je njihov učinak uglavnom predmet interesa molekularno-genetskih istraživanja.

Genske karte domaćih životinja predstavljaju temelj za razumijevanje djelovanja genoma i primjenu zapaženih genskih markera u praktične uzgojno-seleksijske programe. Čine ih definirani geni ili anonimni fragmenti kromosoma koji predstavljaju orijentacijske točke primjene dosegnutih spoznaja, te vodič za daljnje popunjavanje genskih mapa. Oblikovanje korektnih, pouzdanih i “zasićenih” genskih karti preduvjet je stjecanja uvida u strukturu i funkciju animalnih gena, daljnjim istraživanjem genoma, te praktičnu primjenu spoznaja u animalnoj proizvodnji. Komparativno markiranje olakšava zasićivanje kromosoma markerima koji su u visokom stupnju interspecijesno podudarni. Kao temelj komparativnog mapiranja genoma domaćih životinja poslužila je u znatnoj mjeri mapa humanog genoma koja i danas prednjači u “zasićenosti” i informativnosti (*projekt HUGO*).

Genske karte u osnovi se dijele na dva tipa. U prvom tipu genskih karti relativne udaljenosti gena procijenjene su na temelju *crossing-overa*, a u drugom tipu genskih karti udaljenosti genskih lokusa izražene su u baznim parovima (bp). Mjerna jedinica prvog tipa genskih karti je centi Morgan (cM), što znači da ukoliko dva definirana genska lokusa imaju rekombinacijsku frekvenciju 1%, njihova udaljenost je 1 cM. Jedinica cM odgovara veličini 1000000 bp drugog tipa genske karte. Budući da se učestalost *crossing-overa* mijenja, ovisno o populaciji, spolu, dobi i osobitosti isječka, lako može doći do različitih rezultata procjene udaljenosti dva ista genska lokusa iste vrste. Radi toga, prvi tip genskih karti uspoređuje se s drugim tipom genskih karti čije se veličine izražavaju u baznim parovima i manje su podložne različitim paragenetskim utjecajima. Udaljenost genskih lokusa u drugom tipu genskih karti neovisna je o ispitivanom materijalu i time konstantna sve dok nema mutacijskih događanja u kromosomu, radi čega imaju veći stupanj točnosti.

2. Sustavi molekularno genetskih markera u animalnoj genetici

Ovisno o traženom tipu DNA identifikacije, pouzdanosti, specifičnosti i brzini analitike, razvijali su se primjereni markerski sustavi. Kompleksnija DNA istraživanja poput sekvencioniranja uglavnom iziskuju skuplju laboratorijsku opremu, za razliku od baznih studija jedinki ili populacija, koje se mogu raditi uz temeljnu analitičku opremu. Tijekom razvoja molekularno genetske metodologije otkrivani su i usavršavani brojni markerski sustavi, tako da danas na raspolaganju imamo veći broj markerskih sustava poput mikrosatelita (Weber i May, 1989), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*; Botstein i sur., 1980), SSCP (*Single Strand Conformational Polymorphisms*, Orita i sur., 1989), SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*, Argüello i sur., 1998), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*, Vos i sur., 1996), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*, Williams i sur., 1990), sekvenciranje DNA i drugi. Markerski sustavi konstantno se razvijaju, čime postojeće spoznaje brzo rastu te se otvaraju nove mogućnosti praktične primjene markera u kontroli i selekciji domaćih životinja. Podatci informacijske baze Roslin instituta u Edinburgu (tablica 1) ukazuju na znatnu markersku zasićenost genoma, osobito za svinje, goveda i ovce, no na raspolaganju je znatan broj markera za konje i kokoši. Brojnost raspoloživih začetnih oligonukleotida (primeri) po vrstama ukazuje na istraženost određenih genoma.

Tablica 1. - STANJE DNA MARKERA NEKIH VRSTA DOMAĆIH ŽIVOTINJA (ARKdb, 2005)

	<i>Bos taurus</i>	<i>Equus caballus</i>	<i>Sus scrofa</i>	<i>Ovis aries</i>	<i>Gallus gallus</i>
primeri	2474	2417	8581	3538	3193
loci	2725	1470	4081	2030	2530
designated as genes	746	465	1588	543	765
microsatellite	1257	966	1673	2257	1277
PCR-RFLP	4	9	214	34	46
RFLP	-	4	258	250	255
SSCP	21	7	87	42	79
RAPD	-	-	4	58	88
VNTR	-	4	19	2	30
map assignment	2868	688	7068	15752	3707
cytogenetic	659	688	1927	843	307
linkage	2209	0	5141	14909	3400

Mikrosateliti su najvažniji markerski sustav u molekularno genetskim istraživanjima, radi čega ih posebno ističemo. Predstavljaju kratke ponavljajuće nukleotidne sekvence (od 2 do 6 nukleotida), ravnomjerno razdijeljene po genomu na više od sto tisuća lokusa (Weber i May, 1989). Većinom su visoko polimorfni, što ih čini najinformativnijim genskim markerima (Weber i May, 1989; Tautz, 1989). Predstavljaju nekodogeni dio DNA, te se često nazivaju “otpadna DNA” (engl. *junk DNA*). Novija otkrića ukazuju na njihovu važnost pri poravnavanju genske ekspresije (Moxon i Wills, 1999). Alelne varijante mikrosatelita razlikuju se u broju ponavljanja osnovnog motiva (Wintero i sur., 1992), što je posljedica mutacija (inercija ili delecija) jednoga ili više osnovnih motiva. Struktura mikrosatelita može biti popunjena (CACACACACACACA), prekinuta (CACACACAggggCACACA) ili sastavljena (CACACACAGTGTGTGTCACA). Stupanj mutacija na nekim mikrosatelitnim lokusima doseže 10^{-3} po generaciji, što je znatno više nego u drugim regijama nukleusnog genoma (Goldstein i sur., 1995). Stupanj mutacija na mikrosatelitskim lokusima 10 puta je veći nego u mtDNA i 100 do 1000 puta veći nego u DNA introna, radi čega su idealni markeri za proučavanje genetskih razlika među populacijama (Crawford i Littlejohn, 1998).

Mikrosateliti, radi visokog stupnja polimorfnosti i kodominantnoga načina nasljeđivanja, kao genetski markeri sve se više rabe u selekciji domaćih životinja. Jednakomjerna raspodjela velikog broja mikrosatelita u cijelom genomu omogućava konstrukciju genskih karti visoke razlučljivosti. Primjermi su za identifikaciju alelnih varijanti vezanih za određene kvantitativne proizvodne značajke (*Marker Assisted Selection, Quantitative Trait Loci*). Radi blizine lokusa vezanih za određena ekonomski interesantna svojstva manja je

moгуćnost rekombinacije, što povećava točnost detekcije zanimljivih genotipova. Prve objavljene genske karte, temeljene na mikrosatelitima za goveda (Bishop i sur., 1994), svinje (Rohrer i sur., 1994), ovce (Crawford i sur., 1995) i konje (Guerin i sur., 1999) već možemo rabiti u selekciji, no treba iskoristiti i podatke o novim markerima koji stalno pristižu. Visoki stupanj varijabilnosti mikrosatelitskih lokusa omogućuje ocjenu genetskih distanci između populacija i pasmina. Pri većini istraživanja biološke raznolikosti pasmina preporučuje se tipizacija cca. 25 do 30 životinja po populaciji uz veći broj mikrosatelitskih lokusa (> 25).

Sekvenciranje je također jedan od temeljnih metodoloških pristupa genotipizaciji animalne DNA. Sekvenciraju se zanimljivi dijelovi genoma, a s obzirom na tip istraživanja pažnja se usredotočuje prema određenim kromosomima ili citoplazmatskoj DNA. U filogenetskim istraživanjima često se poseže za citoplazmatskom (mitohondrijskom) DNA koja se nasljeđuje majčinskom stranom ili sekvenciranjem Y kromosoma koji se prenosi po očevoj strani. Na taj se način može bolje istražiti i razumjeti geneza pasmina, tijekom mutacija, geneza linija i rodova i drugi evolucijski tokovi.

Mitohondrijska DNA (mtDNA) je radi svoje osobitosti omiljen alat filogenetskih studija. Organizacijski gledano, mtDNA sisavaca evolucijski je konzervirana i iznimno zgusnuta (Attardi, 1985). Ima oblik zatvorene kružnice, prosječne veličine 16,5 kb. Smještena je u matriksu staničnih mitohondrija gdje kodira dvije rRNK, 22 tRNK i 13 proteina (Anderson i sur., 1982). Radi relativno jednostavne organizacije i izolacije, maternalnog nasljeđivanja, odsutnosti rekombinacija i usporedivosti homolognih nukleotidnih regija, mtDNA značajan je markerski sustav u populacijskoj i evolucijskoj biologiji (Harrison, 1989). Evoluciju mtDNA lako uočavamo kroz supstitucije nukleotida, bez većih preuređenja unutar molekule (Wolstenholme, 1992). Frekvencija nukleotidnih zamjena unutar mtDNA je od 5 do 10 puta veća nego u nukleusnom dijelu genoma (Brown i sur., 1982). Jedina nekodogena regija unutar mtDNA je regulatorna regija, koja se radi posebne strukture imenuje kao D-loop (engl. *displacement loop*). D-loop regija mtDNA predstavlja najvarijabilniji dio mtDNA, s 2,8 do 5,0 puta većom učestalošću supstitucije nukleotida nego u preostalim regijama mtDNA (Aquadro i Greenberg, 1982; Cann i sur., 1984), zbog čega je često rabljena u filogenetskim studijama. Stupanj nukleotidne supstitucije unutar D-loop regije mtDNA čovjeka iznosi $2,5-15 \times 10^{-8}$ /nukleotidnom mjestu/godinu (Tamura i Nei, 1993), a kod konja je $2 - 4 \times 10^{-8}$ /nukleotidnom mjestu/godini (Ishida i sur., 1995).

Zadnjih godina nastojalo se sekvencirati cijelu mtDNA domaćih životinja, te je danas za većinu njih nukleotidni slijed poznat. Među prvima sekvencirana je mtDNA miša (Bibb i sur., 1981) i čovjeka (Anderson i sur., 1981), no kasnije su slijedile potpune sekvence mtDNA goveda (Anderson i sur., 1982), konja (Xu i Arnason, 1994), magarca (Xu i sur., 1996), ovce (Hiendleder i sur., 1998a) i svinje (Lin i sur., 1999). Mitohondrijska DNA konja duga je 16660 bp (GenBank NC_001640, Xu i Arnason, 1994), goveda 16338 bp (GenBank NC_006853, Chung i Ha, 2005), ovce 16616 bp (GenBank NC_001941, Hiendleder, 1996a), svinje 16613 bp (Lin i sur., 1999), te kokoši 16782 bp (GenBank AY235571, Aokimoto i sur., 2004). Varijabilnost mtDNA svinje uzrokovana je različitim brojem ponavljanja 10 bp dugog ponavljajućeg motiva unutar D-loop regije (Lin i sur., 1999). Organizacija gena mtDNA peradi dijelom se razlikuje od organizacije mtDNA drugih vrsta domaćih životinja. Razlika je očita u položaju gena tRNA(Glu) i ND6 koji je neposredno do D-loop regije, a kod drugih vrsta domaćih životinja na tom mjestu nalazi se gen za citokrom *b*, tRNA(Pro) i tRNA(Thr). Druga posebnost je odsutnost mjesta začetka replikacije lakog lanca između gena tRNA(Cys) i tRNA(Asn), kojeg nalazimo kod svih drugih kralježnjaka.

3. *Genetskim markerima potpomognuta selekcija domaćih životinja*

Razvojem molekularno-genetske analitičke metodologije genske karte domaćih životinja sve se brže popunjavaju, pružajući uvid u strukturu i funkciju genoma. Sprega određenih genskih varijanti i proizvodnih odlika stalno je u prvom planu, jer je očito da se otvara mogućnost direktnog utjecaja na proizvodna svojstva preko tipizacije određenih genskih lokusa. Strukturnom analizom genoma utvrđeno je da je najveći broj proizvodno bitnih svojstava poligenske prirode, a samo manji dio svojstava signifikantno je ovisan o jednom ili manjem broju gena. Predmet velikog broja studija je povezivanje učinka određenih alalnih varijanti s proizvodnim svojstvima u kvalitativnom i kvantitativnim pogledu te uključivanje u uzgojno-seleksijski rad (MAS i QTL).

Upoznavanje načina djelovanja mutacije na proizvodno obilježje pomaže u konstrukciji genskih testova i njihovoj primjeni. Primjer takvih svojstava na koje djeluje manje gena su dvostražnost goveda koju uzrokuje delecija u miostatin-genu ili supstitucija K232A u DGAT1 genu koja utječe na udio mliječne masti u mlijeku. Raspoloživ je određeni broj dijagnostičkih testova za važna proizvodna svojstva za koja se utvrdila signifikantna veza s određenim genima (markerima), te su kao takvi već uključeni u uzgojno selksijski rad unutar određenih pasmina. Razvijeni su testovi koji utvrđuju alelnu varijantu MH lokusa vezanog za rast goveda, LGB ili CASK lokusa vezanih za proizvodnju mlijeka. Testovi za svinje razvijeni su za lokuse koji su u vezi s

rastom (MC4R), kvalitetom mesa i osjetljivošću na stres (RN, RYR1, FABP4), plodnošću (PRLP, ESR, FSHB), otpornošću (FUT1), konverzijom hrane (MC4R), bojom kože (MC1R) i drugim svojstvima (Schwerin, 2004). U nekim slučajevima boja tijela razjašnjena je na molekularno-genetskoj razini. Alata boja konja definirana je na molekularno-genetskoj razini, nakon uočavanja mutacije na bjelančevini membrane melanocyte preko koje djeluje *MC1R* hormon (*Melanocortin 1 Receptor*). Spomenuta mutacija reflektira se na membransku bjelančevinu a odgovorni hormon ne stimulira produkciju *eumelanina* zbog čega se sintetizira samo *phaeomelanin*. Razlika u genima odgovornima za kodiranje crnog i crvenog pigmenta je u jednoj nukleotidnoj poziciji odgovornog gena (transferzija timina u citozin), što rezultira zamjenom fenilalanina u serin u proteinskom lancu. Želi li se populacija selekcionirati na crnu boju, na raspolaganju je dijagnostički gen-test na nazočnost "crvenog faktora" (*MC1R*), kojim na razini DNA možemo determinirati navedenu mutaciju i na vrijeme nepoželjne heterozigote i homozigote isključiti iz uzgoja.

Istraživanjem vezanosti određenih molekularno-genetskih markera s poligeniskim proizvodnim značajkama u nekim slučajevima uočene su signifikantne veze alelnih varijanti s kvantitativnim odlikama svojstava, zbog čega se takvi lokusi nazivaju *Quantitative Trait Loci* (QTL). U ovakvim slučajevima uglavnom ostaje nepoznato pojašnjenje izravnog učinka prijepisa DNA koda (mutacije) na proizvodne odlike, no za primjenu markera bitno je korektno pozicioniranje genetskih lokusa (markera) u kromosomu. Utvrđene su signifikantne veze kromosomskih QTL-markera goveda s proizvodnjom mlijeka (BTA1-7, BTA9-11, BTA13, BTA14, BTA16-20, BTA23), prirastom (BTA1-3, BTA5-9, BTA12, BTA14, BTA18, BTA19, BTA21-23), funkcionalnim značajkama (BTA5, BTA7, BTA18, BTA19, BTA21, BTA23) i eksterijerom (BTA6, BTA27). Georges i sur. (1995) utvrdili su vezanost QTL markera pozicioniranih na kromosomima BTA1, BTA6, BTA8, BTA10 i BTA20 s količinom i sastavom mlijeka krava. Vezu QTL markera kromosoma BTA6 sa svojstvima mliječnosti u neovisnim istraživanjima za holstein i druge pasmine utvrdili su Kühn i sur. (1996), Spleman i sur. (1996), Lipkin i sur. (1998), Ashwell i sur. (2001) i drugi autori. Na vezu QTL markera smještenih na kromosomima BTA9, BTA10, BTA20, BTA27 s količinom i sastavom mlijeka krava ukazuju Vilkki i sur. (1997), Arranz i sur. (1998), Connor i sur. (2004), Van Tassell i sur. (2004). Neka su istraživanja usmjerena na iznalaženje QTL markera koji imaju učinak na ovulaciju i udio bližjenja krava te su utvrdili spregu QTL markera kromosoma BTA5 (Kappes i sur., 2000; Lien i sur., 2000), BTA7 (Blattman i sur., 1996; Lien i sur., 2000; Arias i Kirkpatrik, 2004), BTA10 (Arias i Kirkpatrik, 2004), BTA12 (Lien i sur., 2000), BTA14 (Gonda i sur., 2004), BTA19 (Arias i Kirkpatrik,

2004) i BTA23 (Blattman i sur., 1996; Lien i sur., 2000), dok Lien i sur. (2000) uočavaju najveći učinak QTL markera kromosona BTA5. Casas i sur. (2004) nastoje odrediti QTL markere za reproduktivna svojstva muških rasplodnjaka mesnih pasmina goveda. Radovi na otkrivanju QTL markera koji utječu na rast goveda i kvalitetu goveđih polovica utvrdili su QTL biljege koji se mogu uključiti u selekcijske programe (Keele i sur., 1999; Stone i sur., 1999; Casas i sur., 2000; Casas i sur., 2001; MacNeil i Grosz, 2002; Kim i sur., 2003).

Signifikantna veza QTL-regija svinja s kvalitetom polovica utvrđena je na više kromosoma (SSC1-4, SSC6-8, SSC12, SSC13, SSC17, SSCX), s mišićnom masom (SSC1-15, SSC17, SSC18), masti (SSC1, SSC3-8, SSC12-14, SSC18) te drugim bitnim svojstvima. Malek i sur. (2001) utvrdili su da visoko konzervirani kromosom SSCX svinja ima znatan broj QTL markera za rast, što su u istraživanju potvrdili Gaboreanu i sur. (2004). Brojna su i druga istraživanja na otkrivanju QTL markera kojima se unapređuju proizvodne odlike svinja (Andersson i sur., 1994; Rohrer i Keele, 1998; Keer i sur., 2000; Milan i sur., 2002). Brojna su istraživanja na iznalaženju QTL markera za druge vrste domaćih životinja, a genetske karte svakodnevno se popunjavaju novim spoznajama.

Pretpostavke su, da strukturne razlike u kodirajućim i nekodirajućim regijama citoplazmatske mtDNA imaju odraza na ekonomski bitne značajke domaćih životinja kao što su rast, reprodukcija i laktacija. Istraživanja su pokazala da 2-10% varijabilnosti u količini mlijeka i mliječne masti možemo pojasniti maternalnim učinkom (Ron i sur., 1992). Analiza mtDNA haplotipova ovaca ukazala je na određeni učinak citoplazmatskog genoma na proizvodne značajke ovaca (Wood i Phua, 1996; Hiendleder, 1996; Hiendleder i sur., 1998b).

Razvoj molekularne genetike unio je promjene u odnosu na proteinske polimorfizme za koje je utvrđena veza s proizvodnim značajkama. Kao primjer mogu poslužiti polimorfni laktoproteini za koje su brojna istraživanja utvrdila da imaju veze s iskoristivošću mlijeka u tehnološkim postupcima obrade, osobito u sirarstvu. S ciljem utvrđivanja činjenica poduzeta su brojna istraživanja poželjnosti proteinskih genotipova goveda i ovaca. Razvoj PCR metodologije omogućio je genotipizaciju alelnih varijanti na razini DNA (Schlee i sur., 1993; Ramunno i sur., 1997; Feligini i sur., 1998; Pilla i sur., 1998), za razliku od ranijih metoda koje su determinirale proteine. Umjesto elektroforetske detekcije proteina, Schlee i sur. (1993) ponudili su mogućnost tipizacije alelnih varijanti A povećati B β -laktoglobulina ovce PCR metodom. Nužno je uporabom odgovarajućih primera amplificirati 236 bp dugu regiju, koja uključuje dio intron I i ekson II gena za β -laktoglobulin, a nakon cijepanja fragmenta s endonukleazom *RsaI*, raspoznamo homozigote

AA po fragmentima veličine 148 i 66 bp, homozigote BB po fragmentu veličine 214 bp, a heterozigote po tri fragmenta (214, 148 i 66 bp). Postupak PCR identifikacije alelnih varijanti α_{s1} kazeina ovce opisuju Ramunno i sur. (1997) i Pilla i sur. (1998). Prema takvim protokolima izrađena je studija frekvencija polimorfni proteina paške ovce (Ivanković i Dovč, 2004). Metode identifikacije alelnih varijanti proteina vezanih za gospodarski bitne proizvodne značajke utvrđene su i za ostale polimorfne alelne varijante proteina drugih vrsta domaćih životinja.

4. Molekularna genetika u dijagnostici nasljednih bolesti (genska dijagnostika)

Genetski predispozicionirane bolesti mogu biti uvjetovane greškom u kariotipu (broju i građi kromosoma), mutaciji na više gena (poligenske bolesti) ili na jednom genu (monogenske bolesti). S obzirom na posljedicu poremećaja koji izazivaju genetske bolesti mogu biti letalne, semiletalne ili subvitalne. Način detekcije nasljednih bolesti prilagođava se samoj prirodi genetskih defekata. Kariotipiziranje se provodi ukoliko se sumnja na grešku u građi kariotipa. Postupak analize kariotipa, od izolacije, inkubacije stanica, fotografiranja do očitavanja rezultata kariotipa traje tri dana. Postupak analize u potpunosti je automatiziran, uz računalnu obradu slike, te je mogućnost pogreške veoma mala. Najčešći poremećaji kariotipa kobila su *X monosomija* (nedostatak X kromosoma, 63.X), himerizam ili pojava XY para spolnih kromosoma u kariotipu. Himerizam pastuha zabilježen je kod arapskog punokrvnjaka, a grla su redovito neplodna. *Muški sindrom* je poremećaj kariotipa pastuha kada se javlja XX par spolnih kromosoma (64.XX). Pojava viška jednog X kromosoma u kariotipu pastuha (65.XXY) rijedak je slučaj ali ipak zabilježen. Slični poremećaji, kao kod konja, javljaju se i kod drugih vrsta domaćih životinja, no budući da su grla s kariotipskim defektom uglavnom neplodna, nasljedni poremećaj rijetko se prenosi na potomstvo.

Genetski predispozicionirane bolesti najčešće nastaju uslijed zamjena nukleotidnih baza u kodirajućim regijama DNA (eksonima). Upoznavajući strukturu gena odgovornog za pojavu nasljednog defekta, genskom dijagnostikom zasnovanom na direktnom testu odgovorne regije (eksona s traženom mutacijom) jedinke s poremećajem možemo veoma rano otkriti i izlučiti iz uzgoja. Kod nepoznavanja sekvence gena odgovorne za nasljedni poremećaj, nastoji se naći genski marker indirektno vezan uz pojavu nasljedne bolesti. Genski marker treba biti što bliže kodogenoj regiji odgovornog gena, kako bi se smanjila mogućnost rekombinacije odnosno pogreške testa. Kao markeri u indirektnoj detekciji najčešće se koriste mikrosateliti. Danas na taj način lako otkrivamo predispoziciju za malignu hipertermiju svinja, BLAD

(*Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency*), DUMPS (*Deficiency of Uridine Monophosphate Synthase*) i CVM (*Complex Vertebral Malformation*) kod Holstein pasmine, SMA (*Spinal Muscular Atrophy*) i Weaver (*Progressive Degenerative Myeloencephalopathy*) kod Brown Swissa, *Myophosphorylase-deficiency* kod Charolaisa i MSUD (*Maple Sirup Urin Disease*) kod Shorthorna i Hereforda te druge poremećaje. Neke od genetskih bolesti konja uvjetovanih poremećajem unutar jednog gena (za koje postoje genetski testovi) su: hiperkalcemijska periodična paraliza (HYPP), lateralno iščašenje patele, malformacija okcipitalno-atlanto-aksialne regije (OAAM), mioklonus, ataksija ždrebadi, degenerativna mieloencefalopatija, letalni sindrom bijelaca, hemofilija A, agamaglobulinemija, SCID, ephiteliogenesis imperfecta, aniridia i noćno sljepilo.

Bolesti kao što je HYPP razjašnjene su na nukleotidnoj razini. HYPP je letalna bolest koju izaziva zamjena na jednoj nukleotidnoj poziciji (normalni gen ...ATC TTC GAC TTC...; bolesni gen ...ATC TTG GAC TTC...), što dovodi do zamjene fenilalanina u leucin u bjelančevini odgovornoj za reguliranje natrijeva prolaza kroz staničnu membranu. Mutacija (insercija) na 76 bp F11 eksona odgovorna je za pojavu nedostatka faktora koagulacije (*Factor XI deficiency*) kod Holstein pasmine, za koji je utvrđen test detekcije genetskog poremećaja (Marron i sur., 2004).

Danas postoji veliki broj dijagnostičkih primjena, jednostavnih i brzih, temeljenih na direktnoj detekciji nasljednog poremećaja na DNA molekuli. Točkaste mutacije lako se dokazuju metodama RFLP, SSCP, DGGE ili DSCP markerskih sustava. Kod goveda postoji niz lokusa (CD18, PRG, CHS, PRNP, PYGM, MANB, MANA, FECH, GAA, TG, UMPS) koji služe za dijagnostiku genetskih poremećaja. Za geneske defekte svinja na raspolaganju su genetski testovi poremećaja (GULO, VWF, LDLR, RYR1 i drugi). I za druge vrste domaćih životinja razrađen je cijeli niz dijagnostičkih testova genetskih poremećaja koji se jednostavno ugrađuju u uzgojne programe, osobito ugroženih populacija.

5. Molekularno-genetska istraživanja filogeneze pasmina domaćih životinja

Filogenetska istraživanja pasmina domaćih životinja nastoje razjasniti genezu pasmina, utvrđujući odnose spram drugih srodnih i nesrodnih pasmina. Radovi uključuju sve dostupne činjenice, pa i spoznaje arheozoologije, pisane tragove, eksterijerna obilježja i pokazatelje genetske strukture. Prije razvoja PCR metodologije, tipizirane su krvne grupe i polimorfni tkivni proteini kako bi spoznali genetsku strukturu istražene populacije. Razvoj molekularno-genetskih metoda osigurao je veliki broj markerskih sustava i genetskih

markera kojima možemo znatno pouzdanije utvrditi i pratiti stanje genetske strukture populacije.

Visoka razina polimorfnosti i kodominantni način naslijeđivanja čini mikrosatelite pogodnim markerima u filogenetskim istraživanjima domaćih životinja, radi čega se najčešće i koriste. Crawford i Cuthbertson (1996) procjenjuju stupanj mutacije mikrosatelitskih lokusa ovce na $1,3 \pm 0,5 \times 10^{-4}$ mutacija/gameti/generaciji, što je znatno više nego u drugim dijelovima nukleusnog genoma. Analiza mikrosatelita pruža vrijedne informacije za razumijevanje intra- i inter-populacijske genetske različitosti i korisne podatke za usporedbu s ranije publiciranim rezultatima istraživanja populacija kao taksonomskih jedinica. Mikrosatelitska genotipizacija uspješno se primjenjuje u studijama evolucijske različitosti pasmina goveda, konja, ovaca, svinja i drugih vrsta domaćih životinja. Primjer usporedbe mikrosatelitskih podataka paške ovce s izvornim slovenskim pasminama ovaca (Kavar i sur., 2002) ukazao je na srodnost paške ovce i istarske pramenke, dok su bovška i jezersko-solčavska pasmina udaljenije (Ivanković i sur., 2005), što može poslužiti u uspostavi eventualne suradnje u uzgojnim programima.

Varijabilnost nukleotidnih mjesta mtDNA rabimo u filogenetskim istraživanjima raznih vrsta domaćih životinja kao što su ovce (Cronin, 1994), goveda (Loftus i sur., 1994), konji (Kavar i sur., 1999; Ivanković i sur., 2004) i drugi. Sama varijabilnost mtDNA ovisna je o frekvenciji mutacija u njenim različitim dijelovima. Gruba je ocjena, da stupnju mutacije mtDNA od 2% odgovara vremensko razdoblje od jednog milijuna godina (Higuchi i sur., 1987). Na osnovi razlika nukleotidnog slijeda mtDNA svinja i goveda Lin i sur. (1999) zaključuju, da je do evolucijskog razdvajanja njihovih predaka došlo prije 53-60 milijuna godina. Analiza različitosti sekvenci D-loop regije mtDNA 243 uzorka prikupljenih iz europskih, afričkih i azijskih pasmina ovaca ukazuje na postojanje dva osnovna mtDNA haplotipa udomaćenih ovaca (*europski i azijski haplotip*), uz procjenu da su se razdvojili prije 375.000 to 750.000 godina (Heindleder i sur., 1998a). Heindleder i sur. (1998b) su PCR-RFLP analizom mtDNA deset pasmina ovaca i nekoliko drugih vrsta roda *Ovinæ* (*O. musimon*, *O. vignei* i *O. ammon*) utvrdili da suvremena ovca i evropski muflon imaju zajedničkog pretka, za razliku od *O. vignei* i *O. ammon* kod kojih pretke nisu mogli identificirati. Istraživanje haplotipova mtDNA paške ovce pokazalo je da postojanje dva temeljna haplotipa od kojih je rjeđi haplotip (M) gotovo identičan haplotipu merino pasmine, no drugi haplotip (P) znatno je udaljeniji od dostupnih sekvenci pasmina ovaca, što pokazuje da pripada izvornom haplotipu pramenke koja je u osnovi naših priobalnih pasmina ovaca (Ivanković i sur., 2005). Istraživanje mtDNA autohtonih pasmina magaraca pokazalo je postojanje tri haplotipa (Y, W, Ws) unutar populacije, s napomenom da je haplotip Y zastupljen u populaciji istarskog

magarca, dok su haplotip W i Ws svojstveni primorsko-dinarskom magarcu (Ivanković i sur., 2002). Kavari i sur. (1999) sustavno su istražili D-loop regiju mtDNA lipicanske pasmine, te su utvrdili grupiranost (filogenetsku udaljenost) rodova, ali i greške u vođenju rodoslovlja.

Određene filogenetske studije usmjeravaju se ka Y kromosomu, osobito MSY regiji (*Male Specific Region*) koja kod čovjeka čini 95% ovoga kromosoma (Skaletsky i sur., 2003). Analiza MSY regije pomaže rasplitanju procesa udomaćenja i razvoja pasmina. Ispitivanje Y kromosoma pomaže u otkriću identiteta divljih predaka, temelja današnjih pasmina. Informacije MSY regije osobito su korisne kod pasmina u čijoj je genezi sudjelovao manji broj muških predaka. Bilježimo radove istraživanja MSY regije ovce (Meadows i sur., 2004), goveda (Hellborg i Ellegren, 2004), konja (Lindgreen i sur., 2004) ali i drugih vrsta domaćih životinja.

6. Uporaba molekularne genetike u očuvanju animalnih genetskih resursa

Čovjek za zadovoljenje potreba iskorištava oko četrdeset vrsta domaćih životinja, koje su podijeljene u 4500 pasmina, raširenih po cijelom svijetu. Svaka pasmina predstavlja jednokratnu i neponovljivu kombinaciju gena. Pretpostavlja se da je više od 30% pasmina domaćih životinja ugroženo, posebice u razvijenim gospodarstvima gdje su autohtone niskoproduktivne pasmine sustavno potiskivane od produktivnijih pasmina. Genetska varijabilnost domaćih životinja zadnjih se desetljeća bitno smanjila reduciranjem broja pasmina koje se koriste u intenzivnoj proizvodnji, intenzivnom selekcijom populacija, uvođenjem novih reprodukcijских tehnika (umjetno osjemenjevanje, ET), kao i pretapanjem populacija (Kantanen i sur., 1995). Pasmine domaćih životinja koje su primarno služile za rad potisnute su ulaskom mehanizacije u poljodjelstvo i druge privredne grane. Međutim, tijekom druge polovice dvadesetog stoljeća spoznalo se da gubitak svake pasmine predstavlja nacionalno i globalno osiromašenje, primarno u genetskom pogledu, budući da svaka pasmina ima osobitu i neponovljivu kombinaciju gena u kojoj su akumulirana tisućljeća borbe s okolišnim prilikama i čovjekov usmjeren selekcijski rad. Vrijednost određenih kombinacija gena možda u ovom vremenu i ne razumijemo, no u nadolazećim vremenima će svakako biti od ključne važnosti u prilagodbi postojećih ili oblikovanju novih pasmina. Zadnjih desetljeća u svijetu je zamjetan globalan napredak u gospodarenju genetskim resursima, a svjedoci smo pokretanja inicijativa i brige za očuvanje nacionalnih animalnih genetskih resursa. Problem nestajanja pasmina intenzivirao je uporabu metoda analize DNA u programima očuvanja ugroženih animalnih genetskih resursa.

Ograničenost bioloških resursa i stupanj ugroženosti dijela pasmina nameće nužnost izbora prioritarnih pasmina koje treba uključiti u konzervacijske programe. Preporuka je da se očuvaju svi animalni genetski resursi, no naglasak se stavlja na očuvanje genetske varijabilnosti odnosno filogenetski udaljenijih pasmina. Primjerene analize genskih mapa omogućavaju identifikaciju evolucijski očuvanih genomskih regija i gena različitih vrsta i pasmina (Fries, 1993). Istraživanje genetskog profila pasmina, izračun genetskih distanci i upoznavanje filogenetskih odnosa pomaže u donošenju objektivnih kriterija i smjernica izrade konzervacijskih programa gospodarenja genetskim resursima. Stoga se u cilju upoznavanja stanja pasmine provode filogenetske a israživanja koja čine temelj zasnivanja programa zaštite. U globalnoj strategiji managementa animalnim genetskim resursima (FAO *Global Strategy for the Management of Farm Animal Genetic Resources*) molekularno-genetske metode zauzimaju važno mjesto u programima očuvanja ugroženih pasmina. S obzirom na znanstveni interes u istraživanjima populacija rabe se različiti ciljani markerski sustavi (mikrosateliti, AFLP, RFLP, SNP, mtDNA, Y kromosom, minisateliti i drugi). Najčešće korišteni genetski markeri u filogenetskim istraživanjima su mikrosateliti, primarno radi njihove informativnosti i jednostavnosti genotipiziranja. Iskustva dosadašnjih tipiziranja pretočena su u preporuku mikrosatelitskog seta od strane ISAG-FAO-a pri genotipizaciji različitih vrsta domaćih životinja (Bradley i sur., 1996). Korištenje standardiziranih preporučenih visokopolimorfni markerskih setova u tipizaciji ima prednost, budući da se postiže visoka razina usporedivosti genetskog profila različitih pasmina.

Genetske distance procijenjene na osnovi genetskih markera pojašnjavaju odnos unutar i između populacija (pasmina), razinu srodnosti i originalnosti, no genetski markeri ne daju potpuni odgovor na uzrok promjena genetske strukture populacije. Na temelju informacija o specifičnosti pasmine, razini uzgoja u srodstvu, prisutnosti defektnih gena preciznije se određuje stvarna veličina ugrožene populacije i modelira najpogodniji selekcijski put očuvanja originalnosti i varijabilnosti genoma. Frekvencije gena, te eventualna prisutnost "privatnih alela" svojstvenih isključivo određenim pasminama, dobrodošla su pomoć ocjeni autohtonosti i nadzoru ispravnosti selekcijskog puta kojim čuvamo identitet ugroženih pasmina. Stalan nadzor razine polimorfnosti na dostatnom broju lokusa ima bitnu ulogu u selekciji, posebice očuvanju ugroženih pasmina.

7. Molekularna genetika u provjeri rodoslovlja domaćih životinja

Razvoj PCR metodologije i markerskih sustava osigurao je nova “oruđa” u provjeri rodoslovlja jedinki, čime svaka životinja nakon provjere stječe svoj trajni genetski identitet, jedinstven i neponovljiv, te je sigurnost potvrđivanja rodoslovlja postala potpuna. Osim u potvrdi rodoslovlja, tipizacija DNA primjenjuje se kod javljanja dvojbjenih podataka, sumnji u očinstvo, sudstvu i drugim situacijama kada je nužno određenje genetskog profila jedinke. Nove molekularno-genetske metode potisnule su praksu utvrđivanja rodoslovlja putem metoda detekcije krvnih grupa i polimorfnih proteina, korištenih prije razvoja PCR metodologije.

Za utvrđivanje rodoslovlja primarno se koriste multi-lokus i specifične-lokus sonde. Multi-lokus sonde služe za identifikaciju polimorfizma više hipervarijabilnih regija, dok specifične-lokus sonde djeluju na jedan lokus. Multi lokus sonde imaju velik diskriminacijski potencijal no nisu pogodne za istraživanje genetske strukture populacije, dok specifične-lokus sonde imaju manji diskriminacijski potencijal, jednostavne su u interpretaciji, te također pouzdane u testu.

Termin “fingerprinting” u provjeri identiteta jedinki i potvrdi rodoslovlja pojavljuje se 1985., a odnosi se na polimorfizam restrikcijskim fragmenatima tretiranog segmenta nukleusne DNA. Moderni analitički uređaji PCR fingerprinting provode potpuno automatizirano, a pouzdanost je velika. Za provjeru rodoslovlja koriste se i minisateliti, repetitivni motivi dužine od 20 do 60 bp, raspršeni po cijelom genomu. Kao najpogodniji markerski sustav pokazali su se mikrosateliti budući da su visoko polimorfni i pogodni za individualnu tipizaciju DNA, odnosno izradu genetskog profila jedinke. Mikrosateliti kao genetski markeri za provjeru rodoslovlja i izradu “genetske iskaznice” životinja prihvaćeni su na međunarodnoj razini, a ISAG (*International Society of Animal Genetics*) je odredio markerski set za svaku vrstu kao i referentne laboratorije u kojima se analiza provodi. Internacionalizacijom tržišta rasplodnog materijala i uporabnih životinja važno je pridržavati se zadanih standarda u pogledu izbora markera i referentnih laboratorija kako bi verifikacija rodoslovlja i drugih dokumenata bila punovaljana.

8. *Uporaba molekularne genetike u kontroli animalnih proizvoda*

Svjedoci smo promjena prehrambenih navika stanovništva, osobito u gospodarski razvijenijim društvima, kada određene animalne proizvode proizvođači protežiraju zbog promjene prehrambenih navika, religioznih ili drugih stavova, bojazni od bolesti ili genetski modificiranih organizama. Kao

primjer može se navesti pojava BSE-a (*Bovine Spongiform Encephalopathy*) koja je kod znatnog broja potrošača izazvala strah od goveđeg mesa, što je znatno uzdrimalo ovu proizvodnu granu u nekim državama. Religijski stavovi također su opravdan razlog zbog čega gotovi animalni proizvodi, osobito oni za ljudsku prehranu, trebaju odgovarati deklariranom sastavu i porijeklu, kako bi potrošači imali slobodu izbora. Osim toga, događaju se manipulacije sirovinama koje se ugrađuju u gotovi proizvod tako da se određene skuplje komponente zamjenjuju jeftinijima.

Metode provjera sukladnosti proizvoda deklaraciji razvijale su se desetljećima, te su se uglavnom temeljile na identifikaciji proteina izoliranih iz proizvoda metodama SDS-PAGE, izoelektričnim fokusiranjem ili testom imunoreaktivnosti. Razvoj PCR metodologije brzo je našao mjesto i u ovom segmentu provjere ispravnosti proizvoda. Danas postoji cijeli niz markerskih sustava i markera kojima s potpunom sigurnošću kvantitativno i kvalitativno tipiziramo sastav proizvoda. O primjeni PCR metodologije u provjeri proizvoda od animalnog mesa postoji mnoštvo istraživanja poput Chikuni i sur. (1994) i Meyer i Candrian (1996). Na mogućnosti primjene oligonukleotidnih proba u utvrđivanju vrste mesa u proizvodima ukazuju Hunt i sur. (1997). Identifikaciju vrste mesa moguće je provesti i drugim markerskim sustavima poput RAPD (Martinez i Malmheden Ymanb, 1998) i SSCP (Rea i sur., 1996). Slično kao kod provjere vrsta mesa u gotovim proizvodima, PCR metodologija omogućila je provjeru vrsta mlijeka u mliječnim proizvodima, vrsta vune i drugih animalnih sirovina koje se ugrađuju u gotove proizvode.

9. *Transfer gena u animalnoj proizvodnji*

Razvoj molekularne genetike i genetske tehnologije omogućio je izolaciju gena, njihovih dijelova koji se u obliku transkripta mRNA (cDNA) mogu klonirati u "vektore" i kao takvi prenijeti i ugraditi u genom drugih vrsta koje novonastale promjene prenose na svoje potomstvo. Time se otvorila mogućnost manipuliranja genetskim informacijama, premda postoji još niz problema u vezi vremenske usklađenosti i pozicioniranosti željene insercije novih sekvenci gena, prijenosa transgena na potomstvo i drugo. Postoji i rizik od popratnih ili prikrivenih učinaka ugrađenih sekvenci ili novih gena u organizmu domaćina, kao i interakcije s okruženjem, bolestima i drugim faktorima. Bojazan se javlja i od utjecaja transgenih životinja i njihovih proizvoda na potrošače animalnih proizvoda, radi čega se javlja znatan otpor tržišta prema takvim sirovinama i prerađevinama.

Rad na stvaranju transgenetičkih životinja traje već dva desetljeća i skoro su sve vrste uključene u pokuse. Nastojanja su usmjerena na stvaranje transgenih životinja s boljim proizvodnim učincima (meso, mlijeko, vuna) ili smanjenim troškovima proizvodnje (otpornost na bolesti). Stvaranje transgenih domaćih životinja otpornih na određene bolesti osiguralo bi ekonomičniju proizvodnju, što je osobito bitno u gospodarstvima s nižom razinom ulaganja u prevenciju bolesti. Time bi se osigurala učinkovitija proizvodnja i umanjili gubici koji nastaju zbog određenih patoloških pojava.

Jedan od primarnih ciljeva transfera gena je stvaranje domaćih životinja koje mogu sintetizirati nespecifične funkcionalne ili nefunkcionalne bjelančevine. Kod mliječnih krava transferom gena nastoje se prilagoditi funkcionalni proteini sekretornog epitela vimena koji su odgovorni u sintezi mliječnog proteina ili mliječne masti. Otpor javnosti i troškovi dobivanja ovakvih mliječnih životinja nisu otvorili praktičnu primjenu dosegnutih spoznaja. Nalazimo podatke o transferu gena rasta u genom svinja (Pursel i Rexroad, 1993), transferu gena za sintezu cisteina u genom ovce radi poboljšanja proizvodnje vune (Powell i sur., 1994), transferu "cold tolerance gen" u genom pastrve (Hew i sur., 1995) i drugima.

Druga vrsta transgeno sintetiziranih proteina su oni koji izravno ne sudjeluju u metabolizmu domaćina (nefunkcionalni), odnosno domaćin je samo medij za njihovu sintezu. Na takav se način u transgenim bakterijama proizvodi čovječiji inzulin kojim se saniraju određeni zdravstveni poremećaji ljudi. Potencijalna sinteza farmaceutskih proizvoda unutar organizma mliječnih životinja već je dijelom zaživjela. Modifikacijom proteina sekretorni epitel vimena može proizvesti određene spojeve koji se nakon izlučivanja u mlijeku izdvajaju i koriste u farmaciji (ljudski albumin, kolagen, laktoferin, protein C, hemoglobin, α_1 -antitripsin i drugi).

LITERATURA

1. Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., DeBruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Ros, B. A., Sanger, F., Schreier, P. H., Smith, A. J. H., Staden, R., Young, I. G. (1981): Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290, 457-465.
2. Anderson, S., De Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Eperon, I. C., Sanger, F., Young, I. G. (1982): Complete sequence of bovine mitochondrial DNA: Conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *Journal of Molecular Biology* 156, 683-717.
3. Andersson, L., Haley, C. S., Ellegren, H., Knott, S. A., Johansson, M., Andersson, K., Andersson-Eklund, L., Edfors-Lilja, I., Fredholm, M., Hansson, I. (1994): Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science* 263, 1771-1774.

4. AOkimoto, R., Froman, D., Pratchard, L., Locovare, H., Kirby, J. (2004): The complete DNA sequence of a chicken mitochondrial genome associated with maternal type that exhibits low sperm mobility. Unpublished, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
5. Aquadro, C. F., Greenberg, B. D. (1982): Human mitochondrial DNA variation and evolution: Analysis of nucleotide sequences from seven individuals. *Genetics* 103, 287-312.
6. Arias, J., Kirkpatrick, B. W. (2004): Mapping of bovine ovulation rate QTL and analytical approach for three generation pedigrees. *Animal Genetics* 35, 7-13.
7. ARKdb. Roslin Institute, <http://www.thearkdb.org/sites.html> (02.03.2005.)
8. Arranz, J. J., Coppieters, W., Berzi, P., Cambisano, N., Grisart, B., Karim, L., Marcq, F., Moreau, L., Mezer, C., Riquet, J., Simon, P., Vanmanshoven, P., Wagenaar, D., Georges, M. (1998): A QTL affecting milk yield and composition maps to bovine chromosome 20: a confirmation. *Animal Genetics* 29, 107-115.
9. Argüello, J. R., Little, A. M., Pay, A. L., Gallardo, D., Rojas, I., Marsh, S. G. E., Goldman, J. M., Madrigal, J. A. (1998): Mutation detection and typing of polymorphic loci through double-strand conformation analysis. *Nature Genetics* 18, 192-194.
10. Ashwell M. S., Van Tassell C. P., Sonstegard T. S. (2001) A genome scan to identify quantitative trait loci affecting economically important traits in a US Holstein population. *Journal of Dairy Science* 84, 2535-2542.
11. Attardi, G. (1985): Animal mitochondrial DNA: an extreme example of genetic economy. *International Review of Cytology* 93, 93-145.
12. Bibb, M. J., Van Etten, R. A., Wright C. T., Walberg, M. W., Clayton, D. A. (1981): Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA. *Cell* 26, 167-180.
13. Bishop, M. D., Kappes, S. M., Keele, J. W. (1994): A genetic linkage map for cattle. *Genetics* 136, 619-639.
14. Blattman, A. N., Kirkpatrick, B. W., Gregory, K. E. (1996): A search for quantitative trait loci for ovulation rate in cattle. *Animal Genetics* 27, 157-162.
15. Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., Davis, R. W. (1980): Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32, 314-331.
16. Bradley, D. G., Bumstead, N., Cothran, G., Crawford, A., Fries, R., Nicholas, F., Ollivier, L. (1996): Microsatellite Markers for the Analysis of Genetic Distances in Domestic Animal Species. CGRFA, Rome.
17. Brown, W. M., Prager, E. M., Wilson A. C. (1982): Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution* 18, 225-239.
18. Cann, R. L., Brown, W. M., Wilson, A. C. (1984): Polymorphic sites and the mechanism of evolution in human mitochondrial DNA. *Genetics* 106, 479-499.
19. Casas, E., Lunstra, E. E., Stone, R. T. (2004): Quantitative trait loci for male reproductive traits in beef cattle. *Animal Genetics* 35, 451-453.
20. Casas, E., Shackelford, S. D., Keele, J. W., Stone, R. T., Kappes S. M., Koochmarai, M. (2000): Quantitative trait loci affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternate forms of myostatin. *Journal of Animal Science* 78, 560-569.
21. Casas, E., Stone, R. T., Keele, J. W., Shackelford, S. D., Kappes, S. M., Koochmarai, M. (2001): A comprehensive search for QTL affecting growth and carcass composition of cattle segregating alternative forms of the myostatin gene. *Journal of Animal Science* 79, 854-860.
22. Chikuni, K., Tabata, T., Kosogiyama, M., Monma, M. (1994): Polymerase chain reaction assay for detection of sheep and goat meats. *Meat Science* 37, 337-345.

23. Chung, H. Y., Ha, J. M. (2005): Haplotype analysis of mitochondrial DNA in Korean native cattle. Unpublished, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
24. Connor, E. E., Sonstegard, T. S., Ashwell, M. S., Bennett, G. L., Williams, J. L. (2004): An expanded comparative map of bovine chromosome 27 targeting dairy form QTL regions. *Animal Genetics* 35, 265-269.
25. Crawford, A. M., Dodds, K. G., Ede, A. J., Pierson, C. A., Montgomery, G. W., Garmonsway, H. G., Beattie, A. E., Davies, K., Maddox, J. F., Kappes, S. W., Stone, R. T., Nguyen, T. C., Penty, J. M., Lord, E. A., Broom, J. E., Buitkamp, J., Schwaiger, W., Epplen, J. T., Matthew, P., Matthews, M. E., Hulme, D. J., Beh, K. J., McGraw, R. A., Beattie, C. W. (1995): An autosomal genetic linkage map of the sheep genome. *Genetics* 140, 703-724.
26. Crawford, A. M., Cuthbertson, R. P. (1996): Mutations in sheep microsatellites. *Genome Research* 6, 876-879.
27. Crawford, A. M., Littlejohn, R. P. (1998): The use of DNA markers in deciding conservation priorities in sheep and other livestock. *AGRI* 23, 21-26.
28. Cronin, M. A. (1994): A unique SacII restriction fragment length polymorphism in mitochondrial DNA of sheep and goats. *Journal of Animal Science* 72, 796.
29. Feligini, M., Parma, P., Aleandri, R., Greppi, G. F., Enne, G. (1998): PCR-RFLP test for direct determination of β -lactoglobulin genotype in sheep. *Animal Genetics* 29, 473-474.
30. Fries, R. (1993): Mapping the bovine genome: methodological aspects and strategy. *Animal Genetics* 24, 111-116.
31. Gaboreanu, A. M., Grapes, L., Ramos, A. M., Kim, J. J., Rothschild, M. F. (2004): Characterization of an X-chromosome PCR-RFLP marker associated with fat deposition and growth in the pig. *Animal genetics* 35, 401-403.
32. Georges, M., Nielsen, D., Mackinnon, M. (1995): Mapping quantitative trait loci controlling milk production by exploiting progeny testing. *Genetics* 139, 907-920.
33. Goldstein, D. B., Linares, A. R., Cavalli-Sforza, L. L., Feldman, M. W. (1995): An evaluation of genetic Distances for Use With Microsatellite Loci. *Genetics* 139, 463-471.
34. Gonda, M. G., Arias, J. A., Shook, G. E., Kirkpatrick, B. W. (2004): Identification of an ovulation rate QTL in cattle on BTA14 using selective DNA pooling and interval mapping. *Animal Genetics* 35, 298-304.
35. Guerin, G., Bailey, E., Bernoco, D., Anderson, I., Antczak, D. F., Bell, K., Binns, M. M., Bowling, A. T., Brandon, R., Cholewinski, G., Cothran, E. G., Ellegren, H., Förster, M., Godard, S., Horin, P., Ketchum, M., Lindgren, G., McPartlan, H., Meriaux, J. C., Mickelson, J. R., Millon, L. V., Murray, J., Neau, A., Røed, K., Sandberg, K., Shiue, Y. L., Skow, L. C., Stott, M., Swinburne, J., Valberg, S. J., VanHaeringen, H., VanHaeringen, W. A., Ziegle, J. (1999): Report of the International Equine Gene Mapping Workshop: male linkage map. *Animal Genetics* 30, 341-354.
36. Harrison, R. G. (1989): Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology and Evolution* 3, 535-546.
37. Hellborg, L., Ellegren, H. (2004): Low levels of nucleotide diversity in mammalian Y chromosomes. *Molecular Biology and Evolution* 21, 158-163.
38. Hew, C. L., Fletcher, G. L., Davies, P. L. (1995): Transgenic salmon: tailoring the genome for food production. *Journal of Fish Biology* 47 (Suppl. A), 1-19.

39. Hiendleder, S. (1996): Molecular characterization of the sheep mitochondrial genome. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 113, 293-302.
40. Hiendleder, S., Lewalski, H., Wassmuth, R., Janke, A. (1998a): The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype. *Journal of Molecular Evolution* 47, 441-448.
41. Hiendleder, S., Lewalski, H., Wassmuth, R., Janke, A. (1998b): The Complete Mitochondrial DNA Sequence of the Domestic Sheep (*Ovis aries*) and Comparison with the Other Major Ovine Haplotype. *Journal of Molecular Evolution* 47, 441-448.
42. Higuchi, R. G., Wrischnik, L. A., Oakes, E., George, M., Tong, B., Wilson, A. C. (1987): Mitochondrial DNA of the extinct quagga: relatedness and extent of postmortem change. *Journal of Molecular Evolution* 25, 283-287.
43. Hunt, D. J., Parkes, H. C., Lumley, I. D. (1997): Identification of the species of origin of raw and cooked meat products using oligonucleotide probes. *Food Chemistry* 60, 437-442.
44. Ishida, N., Oyunsuren, T., Mashima, S., Mukoyama, H., Saitou, N. (1995): Mitochondrial DNA Sequences of Various Species of the Genus *Equus* with Special Reference to the Phylogenetic Relationship Between Przewalskii's Wild Horse and Domestic Horse. *Journal of Molecular Evolution* 41, 180-188.
45. Ivanković, A., Dovč, P., Caput, P., Mijić, P., Konjačić, M. (2004): Genetic characterisation of the Croatian autochthonous horse breed based on polymorphic blood proteins and mtDNA data. 55th Annual Meeting of the EAAP, Bled, 05-09.09.2004.
46. Ivanković, A., Dovč, P., Kavar, T., Caput, P., Mioč, B., Pavić, V., Štuhec, V., Leto, J. (2005): Genetic characterisation of the Pag island sheep breed based on microsatellite and mtDNA data. *Small Ruminant Research* 57, 167-174.
47. Ivanković, A., Kavar, T., Caput, P., Mioč, B., Pavić, V., Dovč, P. (2002): Genetic diversity of three donkey populations in the Croatian coastal region. *Animal Genetics* 33, 169-177.
48. Ivanković, A., Dovč, P. (2004): Polimorfizem genova za β -laktoglobulin i α_{s1} -kazein paške ovce. *Acta Agriculturae Slovenica* 84 (2), 121-130.
49. Kantanen, J., Vilkkki, J., Elo, K., Mäki-Tanila, A. (1995): Random amplified polymorphic DNA in cattle and sheep: application for detecting genetic variation. *Animal Genetics* 26, 315-320.
50. Kappes, S. M., Bennett, G. L., Keele, J. W., Echtenkamp, S. E., Gregory, K. E., Thallman, R. M. (2000): Initial results of genomic scans for ovulation rate in a cattle population selected for increased twinning rate. *Journal of Animal Science* 78, 3053-3059.
51. Kavar, T., Habe, F., Brem, G., Dovč, P. (1999): Mitochondrial D-loop sequence variation among the 16 maternal lines of the Lipizzan horse breed. *Animal Genetics* 30, 423-430.
52. Kavar, T., Kompan, D., Dovč, P. (2002): Genetske razlike med istrsko pramenko, bovsko ovco in jezersko-solčavsko ovco. (Genetic differentiation among Istrian pramenka, Bovec sheep and Jezersko-solcava sheep). *Acta Agriculturae Slovenica* 80, 193-201.
53. Keele, J. W., Shackelford, S. D., Kappes, S. M., Koohmaraie, M., Stone, R. T. (1999): A region on bovine chromosome 15 influences beef longissimus tenderness in steers. *Journal of Animal Science* 77, 1364-1371.
54. Keer, R. J., Chen, Y., Henshall, J. M., Luxford, B. G., Moran, C. (2000): Mapping QTL for meat quality, carcass traits and growth in commercial pigs in Australia. *Proc. 27th Int. Conf. Anim. Genet.*, B072.

55. Kim, J. J., Farnir, F., Savell, J., Taylor, J.F. (2003): Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between *Bos taurus* (Angus) and *Bos indicus* (Brahman) cattle. *Journal of Animal Science* 81, 1933-1942.
56. Kühn, C., Weikard, R., Goldammer, T., Grupe, S., Olsaker, I., Schwerin, M. (1996): Isolation and application of chromosome 6 specific microsatellite markers for detection of QTL for milk-production traits in cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 113, 355-362.
57. Lien, S., Karlsen, A., Klemetsdal, G., Våge, D. I., Olsaker, I., Klungland, H., Aasland, M., Heringstad, B., Ruane, J., Gomez-Raya, L. (2000): A primary screen of the bovine genome for quantitative trait loci affecting twinning rate. *Mammalian Genome* 11, 877-882.
58. Lin, S. C., Sun, Y. L., Liu, C. Y., Yang, P. C., Chang, L. C., Cheng, I. C., Mao, S. J., Huang, M. C. (1999): Complete nucleotide sequence of pig (*Sus scrofa*) mitochondrial genome and dating evolutionary divergence within Artiodactyla. *Gene* 236, 107-114.
59. Lipkin, E., Mosig, M.O., Darvasi, A., Ezra, E., Shalom, A., Friedmann, A., Soller M. (1998): Quantitative trait locus mapping in dairy cattle by means of selective milk DNA pooling using dinucleotide microsatellite markers: analysis of milk protein percentage. *Genetics* 149, 1557-1567.
60. Loftus, R. T., MacHugh, D. E., Ngere, L. O., Balain, D. S., Badi, A. M., Bradley, D. G., Cunningham, E. P. (1994): Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations. *Animal Genetics* 25, 265-271.
61. MacNeil, M. D., Grosz, M. D. (2002): Genome-wide scans for QTL affecting carcass traits in Hereford X composite double backcross populations. *Journal of Animal Science* 80, 2316-2324.
62. Malek, M., Dekkers, J. C. M., Hakkyo, K. L., Baas, T. J., Rothschild, M. F. (2001): A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig: I. Growth and body composition. *Mammalian Genome* 12, 630-636.
63. Marron, B. M., Robinson, J. L., Gentry, P. A., Beever, J. E. (2004): Identification of a mutation associated with factor XI deficiency in Holstein cattle. *Animal Genetics* 35, 454-456.
64. Martinez, I., Malmheden Yman, I. (1998): Species identification in meat products by RAPD analysis. *Food Research International* 31, 459-466.
65. Meadows, J. R. S., Hawken, R. J., Kijas, J. W. (2004): Nucleotide diversity on the ovine Y chromosome. *Animal Genetics* 35, 379-385.
66. Meyer, R., Candrian, U. (1996): PCR-based DNA analysis for the identification and characterization of food components. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 29, 1-9.
67. Milan, D., Bidanel, J. P., Iannuccelli, N., Riquet, J., Amigues, Y., Gruand, J., Le Roy, P., Renard, C., Chevalet, C. (2002): Detection of quantitative trait loci for carcass composition traits in pigs. *Genetics Selection Evolution* 34, 705-728.
68. Moxon, E. R., Wills, C. (1999): DNA Microsatellites: Agents of Evolution?. *Scientific American*, 72-77.
69. Orita, M., Iwahana, H., Kanazawa, H., Hayashi, K., Sekiya, T. (1989): Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proceedings of National Academy of Sciences of the USA* 86, 2766-2770.
70. Pilla, F., Bevilacqua, C., Leroux, C., Fraghi, A., Martin, P. (1998): Genotyping of α -s1 casein in sheep. *Animal Genetics* 29, 472-473.

71. Powell, B. C., Walker, S. K., Bawden, C. S., Sivaprasad, A. V., Rogers, G. E. (1994): Transgenic sheep and wool growth: possibilities and current status. *Reprod. Fertil. Dev.* 6, 615-623.
72. Pursel, V. G., Rexroad, C. E. (1993): Status of research with transgenic farm animals. *J. Animal Sci.* 71 (Suppl. 3), 10-19.
73. Ramunno, L., Cosenza, G., Rando, A., Macciotta, N. P. P., Pappalardo, L., Masina, P. (1997): Identification of Carriers of the Welsh CASA1 variant using an allele-specific PCR method. *Animal Genetics* 28, 154-155.
74. Rea, S., Chikuni, K., Avellini, P. (1996): Possibility of using single strand conformation polymorphism (SSCP) analysis for discriminating European pig and wild boar meat samples. *Italian Journal of Food Science* 3, 211-220.
75. Rohrer, G. A., Alexander, L. J., Keele, J. W., Smith, T. P., Beattie, C. W. (1994): A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics* 136, 231-245.
76. Rohrer, G. A., Keele, J. W. (1998): Identification of quantitative trait loci affecting carcass composition in swine: I. Fat deposition traits. *Journal of Animal Science* 76, 2247-2254.
77. Ron, M., Genis, I., Ezra, E., Yoffe, O., Weller J. I., Shani, M. (1992): Mitochondrial DNA polymorphism and determination of effects on economic traits in dairy cattle. *Animal Biotechnology* 3, 201-219.
78. Schlee, P., Krause, I., Rottmann, O. (1993): Genotyping of ovine β -lactoglobulin alleles A and B using the polymerase chain reaction. *Archiv für Tierzucht* 36, 519-523.
79. Schwerin, M. (2004): Stand und Perspektiven der molekularen Genomanalyse in der Tierzucht und -haltung. *Züchtungskunde* 76, 403-411.
80. Skaletsky, H., Kuroda-Kawaguchi, T., Minx, P. J. (2003): The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 423, 825-837.
81. Spleman, R. L., Coppieters, W., Karim, L., van Arendonk, J. A. M., Bovenhuis, J. S. (1996): Quantitative trait loci analysis for five milk production traits on chromosome six in the dutch Holstein-Friesian population. *Genetics* 144, 1799-1808.
82. Stone, R. T., Keele, J. W., Shackelford, S. D., Kappes, S. M., Koohmaraie, M. (1999): A primary screen of the bovine genome for QTL affecting carcass and growth traits. *Journal of Animal Science* 77, 1379-1384.
83. Tamura, K., Nei, M. (1993): Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10, 512-526.
84. Tautz, D. (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17, 6463-6471.
85. Van Tassell, C. P., Sonstegard T. S., Ashwell, M. S. (2004) Mapping quantitative trait loci affecting dairy conformation to chromosome 27 in two Holstein grandsire families. *Journal of Dairy Science* 87, 450-457.
86. Vilkki, H. J., de Koning, D. J., Elo, K., Velmala, R., Maki-Tanila, A. (1997): Multiple marker mapping of quantitative trait loci of Finnish dairy cattle by regression. *Journal of Dairy Science* 80, 198-204.
87. Vos, P., Rogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zebau, M. (1996): ALFP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Research* 23, 4407-4414.
88. Weber, J. L., May, P. E. (1989): Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics* 44, 388-396.

89. Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* 18, 6531-6535.
90. Wintero, A. K., Fredholm, M., Thomsen, P. D. (1992): Variable (dG-DT)_n(dC-dA)_n sequences in the porcine genome. *Genomics* 12, 1026-1031.
91. Wood, N. J., Phua, S. H. (1996): Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Animal Genetics* 27, 25-33.
92. Wolstenholme, D. R. (1992): Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. *International Review of Cytology* 141, 173-215.
93. Xu, X., Arnason, U. (1994): The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of the control region. *Gene* 148, 357-362.
94. Xu, X., Gullberg, A., Arnason, U. (1996): The Complete Mitochondrial DNA (mtDNA) of the Donkey and mtDNA Comparisons Among Four Closely Related Mammalian Species-Pairs. *Journal of Molecular Evolution* 43, 438-446.

THE USE OF MOLECULAR GENETICS IN ANIMAL PRODUCTION

Summary

During the last two decades, molecular genetics has entered numerous human activities methodologically and applicatively and is particularly used in food manufacturing, i.e. animal production. Giving the insight into the genome structure and function, formed genetic maps of domestic animals, genetic markers have become the tool of a more efficient selection, the promotion of significant production features, elimination of hereditary diseases and higher reliability in selection work. Finding direct and indirect genetic markers connected with economically significant production features of domestic animals has been a primary interest of the animal molecular genetics. By building adequate genetic markers into breeding programmes, the choice of suitable breeding individuals in the early age has been made possible, regardless of the sex, constitution, physiological status and other factors, before these economically significant manufacturing features become apparent. Hereditary diseases are efficiently discovered and treated by tests for direct DNA detection of adequate gene code errors. Particularly important is the possibility of detecting and extracting heterozygotes with a hereditary error. Checking for the existence of certain genetic disturbance is in some cases the obligation of national breeding programmes and a precondition for the access to the market of breeding material and animal products. The confirmation of a pedigree on a DNA level by a set of highly polymorphic genetic markers gives almost absolute certainty of the data correctness, i.e. it discovers accidental or intentional errors in data management. A valid confirmation of a pedigree in carrying out breeding programmes and the market exchange of breeding valid and usable animals is the obligation of all those who want to participate in global market flows. The significance of molecular genetics is unavoidable in the conservation of animal genetic resources since it gives basic ideas about the originality of breeding, the level of breeding in relationship, contamination by other genomes, the basis for establishing valid conservation breeding programmes. Molecular genetics offers great possibilities through a gene transfer and formation of transgene animals, although, in this area there are many doubts about the justification of such procedures and possible consequences of gene manipulation. Genetic markers have been efficiently used in checking the compatibility, quality and quantity of food. Molecular genetics has found its place in the animal production and the responsibility of understanding possibilities, advantages and risks, as well as building it in to the existing breeding programmes to the optimum, lies with us.

Key words: molecular genetics, animal production, genetic markers

Primljeno: 4. 4. 2005.