

Primjena genomskih informacija u selekciji goveda

Vrbančić, Marijana

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:173335>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-22**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



1. UVOD

Govedarstvo predstavlja najvažniju granu stočarske proizvodnje i od velikog je značaja za poljoprivredu u Republici Hrvatskoj. Govedarstvo je jedan od gospodarskih sektora u kojem Republika Hrvatska ima izvrsne prirodne uvjete proizvodnje, ali je uz vrlo lošu strukturu i nerazvijeno tržište postala jako ovisna o uvozu. Razvijenost govedarske proizvodnje često se koristi kao pokazatelj stanja u poljoprivredi jedne zemlje, i trenutno se u Republici Hrvatskoj bori s velikim i složenim problemima. Govedarstvo je najznačajnija grana poljoprivredne proizvodnje, ne samo zbog toga što je riječ o visokovrijednim proizvodima za ljudsku prehranu nego i zbog činjenice da je riječ o proizvodnji koja zahtijeva veliko interdisciplinarno znanje stočara. Opskrba tržišta mlijekom, mesom i uzgojnim podmlatkom iz domaćih izvora je dobrim dijelom poremećena, a zaoštrava se i zbog globalne krize i domaćeg dužničkog tereta. Zato se Hrvatska i dalje uvelike oslanja na uvoz podmlatka za uzgoj odnosno tov, a ni proizvodnja mlijeka ne pokriva domaće potrebe. S ciljem postizanja što boljih proizvodnih rezultata, a time ujedno i što veće ekonomske dobiti, potrebno je pored unapređenja tehnologije proizvodnje provoditi i selekciju sukladno uzgojnom programu. Uzgojni program goveda ima nacionalni i međunarodni karakter, te predstavlja osnovu genetske izgradnje populacije goveda u Republici Hrvatskoj. Stvaranje uzgojno valjanih životinja provodi se sukladno uzgojnim programima i spada u područje posebnog nacionalnog interesa. Provođenje uzgojnog programa bilo je ograničeno tijekom zadnjeg desetljeća zbog nekoliko čimbenika, a jedan od njih je da su centri za umjetno osjemenjivanje započeli s procesom privatizacije i postali tržišno usmjereni. Osim toga, pored opravdanog uvoza kvalitetnih bikova iz drugih uzgoja, došlo je i do uvoza prosječnih bikova koji ne osiguravaju očekivani genetski napredak u uzgoju, a broj testiranih bikova iz nacionalnog uzgojnog programa sveden je na minimum. Navedeni čimbenici doveli su do velike opasnosti da će se „izgubiti geni“ koji predstavljaju nacionalno bogatstvo i koji uvelike omogućavaju prilagodbu uvjetima uzgoja u našem podneblju te doprinose ukupnoj genetskoj raznolikosti. Unapređenje govedarske proizvodnje s genetskog stajališta ima za cilj izabrati (selekcionirati) životinje poželjnih fenotipova za gospodarski značajna svojstva, te ih koristiti kao roditelje budućih generacija potomaka. S ciljem postizanja trajnog i što konkurentnijeg razvoja govedarstva, a prateći svjetske trendove, tijekom 2012. godine započeto je uvođenje genomske selekcije u govedarstvo Republike Hrvatske. Cilj genomske selekcije je povezati sve poznate izvore informacija – fenotip, porijeklo i

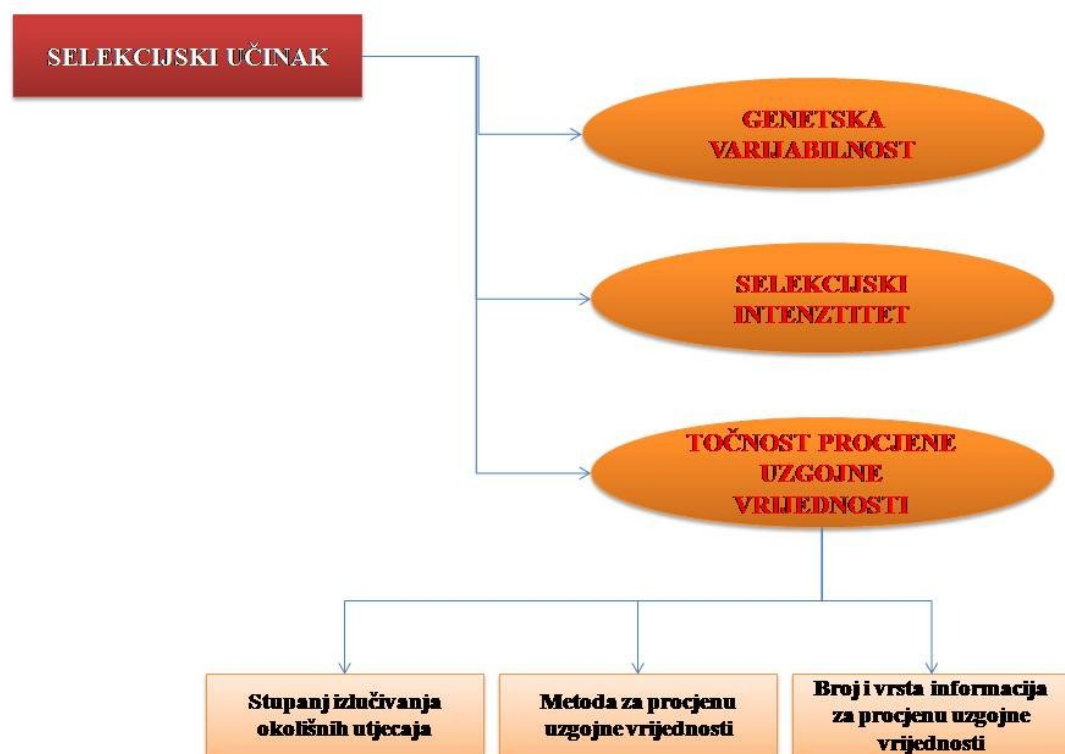
genetske markere kako bi se dobila što veća točnost procijenjene uzgojne vrijednosti (UV) i osigurao genetski napredak. Genomska uzgojna vrijednost se može izračunati za oba spola u ranoj fazi života, a time i genomska selekcija može povećati profitabilnost i ubrzati genetsku dobit u uzgoju mliječnih goveda smanjenjem generacijskog intervala i troškova dokazanih bikova. Pored većeg genetskog napretka, genomska selekcija omogućava i bolju kontrolu porijekla i sprečavanje uzgoja u srodstvu, te poboljšanje svojstava sa niskom heritabilnošću. Brzi razvoj metoda molekularne genetike potaknuo je interes uzgojnih udruženja za integraciju genetskih markera u uzgojne programe u govedarstvu, te se mogu očekivati značajne promjene u metodama selekcije za gospodarski značajna svojstva.

Cilj ovog rada je prikaz dosadašnjih dostignuća i budućih mogućnosti primjene genomske informacije u selekciji goveda. Primjena genomske informacije u sklopu nacionalnog uzgojnog programa provodi se s ciljem unapređenja uzgoja goveda u Republici Hrvatskoj i postizanja trajnog i konkurentnog hrvatskog uzgoja na nacionalnoj i međunarodnoj razini.

2. SELEKCIJA I PROCJENA UZGOJNE VRIJEDNOSTI

Selekcija (lat. *selectio*=izbor, odabiranje) predstavlja uzgojni postupak kojim uzgajivač odabire roditeljske parove budućih generacija. Selekcijom se poboljšava genetska osnova za pojedina ekonomski važna svojstva. Favoriziranjem životinja većih proizvodnih sposobnosti i izlučivanjem životinja manjih proizvodnih sposobnosti akumuliraju se tijekom generacija geni za pojedina svojstva (mliječnost, rast, mesnatost), što utječe na sve veće povećanje proizvodnje (Uremović i sur., 2002.). Selekcija je najznačajniji sistematski proces koji izaziva promjene u frekvenciji gena i genotipova u nekoj populaciji. 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 pod utjecajem prirodnih zakonitosti, prema kojima, priroda odabire one jedinke koje se uspijevaju prilagoditi životnoj sredini, a eliminira one koje nisu sposobne za život u slobodnom prirodnom okruženju. Prirodna selekcija djeluje na jedinke na taj način da utječe na njihov fitness. Fitness je zapravo različita stopa reprodukcije između genotipova u populaciji bez utjecaja čovjeka, pri čemu važnu ulogu ima genetska varijabilnost između jedinki u pogledu životne sposobnosti odnosno opstanka. Fitness je vrlo složeno svojstvo koje je povezano sa reproduktivnom sposobnošću, zdravljem, otpornošću na bolesti i dugovječnošću (Falconer i Mackay, 1996.). Prirodna selekcija je najčešće negativna jer daje prednost prilagođenijim i otpornijim genotipovima s većom stopom preživljavanja i reproduktivskom sposobnosti te nižom proizvodnjom. Umjetna selekcija je ona koju provodi čovjek, odnosno ona koja se odvija u populacijama domaćih (farmskih) životinja. Umjetna selekcija je uzgojni postupak kojim uzgajivač promišljeno odabire muške i ženske životinje kao parove za stvaranje budućih generacija i čiji je cilj dobiti više i proizvesti bolje proizvode. Uzgajivač planskim odabirom muških i ženskih jedinki za daljnju reprodukciju utječe na promjenu učestalosti gena u populacijama domaćih životinja jer ne daje svim jedinkama jednaku šansu za reprodukciju. Međutim, valja imati na umu da pored umjetne selekcije uvijek djeluje i prirodna selekcija (Jovanovac, 2013.). Cilj selekcije je uzgoj najboljih jedinki, odnosno “pariti najbolje jedinke s najboljim jedinkama” koje će tada na potomstvo prenijeti takav genetski potencijal koji će omogućiti ostvarenje odgovarajuće ekonomske dobiti. Dugoročno je učinkovita samo ona selekcija koja ne utječe na smanjivanje genetske varijabilnosti u populacijama domaćih životinja. Važno je

da selekcija ne utječe na pogoršanje funkcionalnih svojstava (zdravlje, otpornost, plodnost i dugovječnost), a s druge strane da uzgajivaču osigurava gospodarsku korist. Selekcijom se ne stvaraju novi geni već se mijenja njihova učestalost. Cilj je svake selekcije povećanje frekvencije poželjnih, a smanjenje frekvencije nepoželjnih gena. Promjene u frekvenciji gena dovode do promjene genotipova, a posljedica svega toga je i promjena fenotipova populacije (Jovanovac, 2013.). 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 (Ivanković, 2012.).



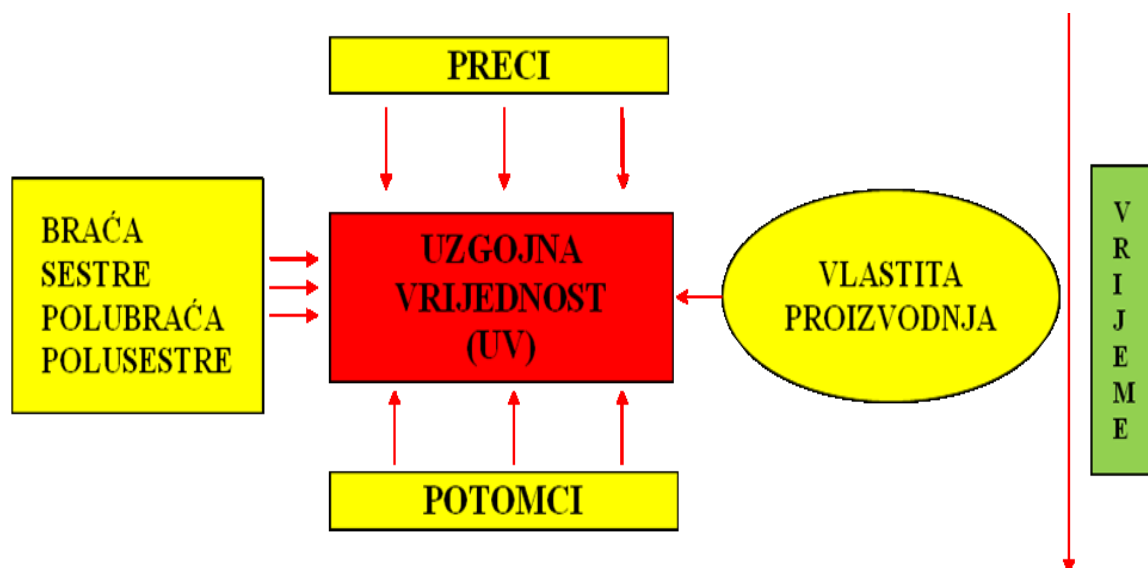
Shema 1. Čimbenici o kojima ovisi selekcijski učinak (izvor: Jovanovac, 2013.)

Genetsko poboljšanje kvantitativnih osobina jedan je od najznačajnijih zadataka uzgajivača goveda. Selekcija kvantitativnih svojstava je vrlo složen postupak kad je u pitanju promjena nasljedne osnove populacija u željenom smjeru. Kvantitativna svojstva su nasljedno uvjetovana mnoštvom gena, od kojih svaki od njih posebno daje svoj utjecaj u

formiranju svojstva. Na kvantitativna svojstva u većoj ili manjoj mjeri djeluju vanjski utjecaji, koji dodatno prikrivaju fenotip što onda otežava procjenu genotipa životinje, a koji je zapravo temelj za provedbu selekcije. Razlikujemo dvije glavne ekonomski značajne skupine svojstava na koje se vrši selekcija. Prvu skupinu čine proizvodna svojstva i svojstva kvalitete, dok u drugu pripadaju funkcionalna svojstva odnosno svojstva koja su povezana s fitnessom. Navedene skupine svojstava međusobno su manje ili više direktno ili indirektno povezane. Osim o genetskoj i fenotipskoj povezanosti između spomenutih skupina svojstava učinak selekcije ovisit će i o genetskoj i okolišnoj varijabilnosti, heritabilitetu i ekonomskoj značajnosti pojedinih svojstava. 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. Genetsko vrednovanje jedinke koja je kandidat za selekciju odnosi se na procjenu njene uzgojne vrijednosti. Uzgojna vrijednost jedinke određuje njezino mjesto u populaciji i glavni je kriterij za selekciju (Jovanovac, 2013.).

Uzgojna vrijednost jedinke je učinak genskih informacija koje rasplodno grlo prenosi na potomstvo (Caput, 1996.). Uzgojna vrijednost rasplodne životinje za jedno ili više svojstava je određena genima koje prenosi na potomstvo, a očituje se kao prosječan učinak gena na fenotip potomstva. To je zapravo, aditivna genetska vrijednost životinje u odnosu na prosjek populacije iz koje potječe (Jovanovac, 2013.). Uzgojna vrijednost može se određivati za kvalitativna i kvantitativna svojstva. Kod određivanja uzgojne vrijednosti gleda se prosjek populacije, odnosno relativno ili apsolutno odstupanje pojedine jedinke od tog prosjeka. Uzgojna vrijednost neke jedinke je nepoznata vrijednost, a može se procijeniti ako raspolažemo s informacijama koje se odnose na: vlastiti fenotip, fenotip svih poznatih srodnika i vlastiti fenotip + fenotip srodnika. Informacije su zapravo proizvodni podatci jedinke kojoj kanimo procijeniti uzgojnu vrijednost, proizvodni podatci njenih vertikalnih (preci, potomci) ili pobočnih srodnika. Informacijama pripadaju i podatci o heritabilitetu nekog svojstva. Kod donošenja selekcijskih odluka značajno je u što kraćem vremenskom razdoblju procijeniti uzgojnu vrijednost jedinki kao potencijalnih kandidata za selekciju, kako bi se skratio generacijski interval, odnosno vrijeme koje je potrebno za zamjenu jedne generacije sa sljedećom. Kako je već spomenuto, stvarna uzgojna vrijednost neke jedinke za neko kvantitativno svojstvo je nepoznata vrijednost, pa se ona procjenjuje s većom ili manjom točnošću. Na točnost procjene uzgojne vrijednosti utječe nekoliko čimbenika: vrsta i broj informacija, heritabilitet svojstva, stupanj izlučivanja okolišnih

utjecaja te statistička metoda i model za procjenu. Točnost procjene uzgojne vrijednosti utječe na izbor životinja i na cjelokupan uspjeh u selekcijskom radu (Jovanovac, 2013.).



Shema 2. Informacije koje se mogu koristiti za procjenu uzgojne vrijednosti (UV) jedinke (izvor: Jovanovac, 2013.)

Jedan od najstarijih načina poboljšanja uzgojne vrijednosti životinja je parenje „najboljih“ životinja. U devetnaestom stoljeću uzgojni rad u govedarstvu temeljio se samo na rodovniku (pedigre) i fenotipu krava i bikova. Nakon toga se odabir mladih bikova s najvišom genetskom sposobnošću temeljio na roditeljskim prosjecima što je prosječna procijenjena 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 genoma i gena, dolazi do oblikovanja genskih karata domaćih životinja i genetski markeri postaju oruđe učinkovitije selekcije, unapređenja bitnih proizvodnih svojstava, eliminacije nasljednih bolesti i veće pouzdanosti u selekcijskom radu. 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. Sve to dovodi do boljeg razumijevanja djelovanja nasljedne osnove i do razvoja genomske selekcije u stočarstvu, a posebice u govedarstvu (Ivanković, 2005.).

2.1. Progeni test

Selekcija po potomstvu temelji se na proizvodnim podacima potomaka životinje čiju uzgojnu vrijednost kanimo procijeniti. Takav oblik selekcije naziva se još i progeni test (Jovanovac, 2013.). Svako grlo u reprodukciji prenosi polovicu gena na svakog svog potomka, drugu polovicu gena jedinka dobiva od drugog roditelja. U progenom testu jedinka se ocjenjuje na temelju prosjeka svoga potomstva. Taj prosjek ovisi o nasljednoj osnovi i uvjetima vanjske sredine, tj. prosjeka fenotipova potomaka. Ova metoda selekcije je vrlo raširena, a posebno je postala popularna u govedarstvu primjenom umjetnog osjemenjivanja, kada se ukazala potreba za što točnijom provjerom uzgojne vrijednosti i selekcije muških životinja (Jovanovac, 2013.). Progeni 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. Progeni test se također koristi i pri procjeni uzgojne vrijednosti bikova za klaonička svojstva, na temelju fenotipa njihovih sinova. Učinkovitost selekcije po potomstvu ovisi o točnosti procjene uzgojne vrijednosti, a ova opet ovisi o broju potomaka. Što je veći broj potomaka, to je i točnija ocjena njihova fenotipa. Točnija ocjena fenotipa potomaka osigurava veću točnost procjene uzgojne vrijednosti njihovih roditelja koji su kandidati za selekciju. Osim o broju potomaka, točnost procjene uzgojne vrijednosti ovisi o koeficijentu srodstva između potomaka po jednom roditelju te o veličini heritabiliteta (Jovanovac, 2013.). U programu progenog testiranja, najprije se odabire skupina elitnih krava kao potencijalnih majki mladih bikova. Ove elitne krave se pare s elitnim očevima koji su progeno testirani u prethodnoj generaciji

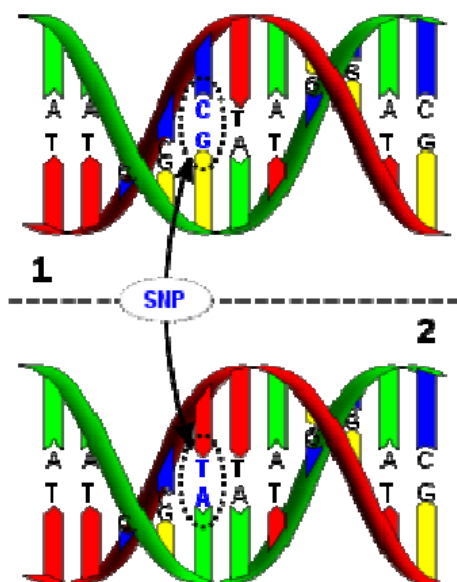
za određeno (dotično) svojstvo. Nakon što ti mladi bikovi dosegnu spolnu zrelost (obično oko 12 mjeseci starosti), oni se pare s velikim brojem krava na komercijalnim poljoprivrednim gospodarstvima s ciljem proizvodnje oko 100 kćeri. Oko 3 godine kasnije, kćeri tih mladih bikova započinju s laktacijom. Dobiveni podaci o mliječnosti kćeri se koriste za izračunavanje UV njihovih očeva s pouzdanošću od 75 do 85%. Tada su bikovi 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 uzgojne vrijednosti. Potrebno je najmanje pet godina da bi se dobili rezultati, odnosno prvi indeksi. Selekcija po progenom testu ima i svoje nedostatke, a koji se sastoje u tome da se zbog duljeg generacijskog intervala podatci o uzgojnoj vrijednosti dobiju relativno kasno, a za donošenje selekcijskih odluka potrebne su informacije što je moguće ranije. Osim navedenih nedostataka tu su još i sporo i skupo testiranje bikova, te je nemoguće brzo preusmjeravanje uzgojnih ciljeva (Ivanković, 2012.). Ovaj dugotrajan i skup proces moguće je skratiti uvođenjem genomske selekcije. Već u prvom mjesecu života moguće je odrediti da li je tele naslijedilo određene poželjne gene određivanjem genetskih markera.

3. GENOMSKA SELEKCIJA

Uzgojni se rad u selekciji goveda do nedavno temeljio isključivo na uporabi metoda kvantitativne genetike, pri čemu je varijanca fenotipskih odnosno proizvodnih obilježja populacije predstavljala temelj selekcijskog napretka (Ivanković, 2005.). Primjenom brojnih spoznaja iz populacijske i kvantitativne genetike u selekciji postignuti su značajni rezultati u poboljšanju proizvodnih i ostalih gospodarski značajnih svojstava. Genotip nije bio poznat, te se za njegovu procjenu koristio fenotip jedinke ili fenotip njenih srodnika (Jovanovac, 2013.). Tijekom posljednja dva desetljeća lančana reakcija polimerazom (PCR) i sekvencioniranje (određivanje sljedova nukleotida) DNK, kao osnovne istraživačke metode u molekularnoj genetici, postale su učinkovite i ekonomski prihvatljive širem krugu znanstvenika (Awise, 2004.). Također je razvijeno nekoliko novih genetskih markera kao što su mikrosateliti i polimorfizam pojedinačnih nukleotida (SNP – Single Nucleotide Polymorphism) te su unaprijeđeni kompjuterski programi za obradu podataka što je omogućilo primjenu molekularnih tehnika u mnogim istraživačkim područjima. Brzi razvoj molekularne genetike omogućio je direktnu analizu genoma životinja, proučavanje strukture i funkcije gena, te tako pripomogao boljem razumijevanju djelovanja nasljedne osnove. Pružajući uvid u strukturu i funkciju genoma i gena, oblikovane genske karte domaćih životinja i genetski markeri postaju oruđe učinkovitije selekcije, unapređenja bitnih proizvodnih svojstava, eliminacije nasljednih bolesti i veće pouzdanosti u selekcijskom radu. Jovanovac (2013.) navodi kako se primjenom spoznaja iz molekularne genetike, omogućuju bolji rezultati u selekciji, posebice za svojstva koja se teško poboljšavaju korištenjem metoda konvencionalne (fenotipske) selekcije u svojstava niskog heritabiliteta ili svojstava čiji se fenotip teško mjeri (dugovječnost, otpornost na bolesti) ili mjerenje nije izvedivo u kandidata za selekciju (klaonička svojstva). Iznalaženje direktnih i indirektnih genetskih markera vezanih za ekonomski bitna proizvodna obilježja domaćih životinja od primarnog je interesa animalne molekularne genetike (Ivanković, 2005.). Molekularno-genetske metode omogućile su uvid u nekodirajuće regije genoma, koje kod sisavaca čine više od 90% DNK 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. Nasljedne bolesti učinkovito se otkrivaju i suzbijaju testovima direktne DNK 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. Genetski markeri učinkovito se koriste u provjeri sukladnosti, kvaliteti i kvantiteti namirnica (Ivanković, 2005.). Molekularna genetika našla je svoje mjesto u govedarskoj proizvodnji, stoga postoji velika odgovornost razumijevanja mogućnosti, prednosti i rizika, te ugradnje u postojeće uzgojne programe u govedarstvu u optimalnoj mjeri.

U posljednjih nekoliko godina, tradicionalne metode selekcije nadopunjuju se genetskim analizama jedinki koje se temelje na otkrivanju gena koji utječu na izražaj određenih gospodarski značajnih svojstava ili određivanju njihove približne lokacije (regije) u genomu koristeći genetske markere. Genetski markeri označavaju određeno mjesto u genomu gdje se potencijalno nalaze geni. U genetske markere ubrajamo tzv. 'snip' (SNP) markere (engl. Single Nucleotide Polymorphisms) koji označavaju promjenu samo jedne nukleotidne baze u DNK molekuli. Poznato je na tisuće SNP-sa za koje se zna pozicija u genomu, a posljedično i promjena nukleotidne baze. Međutim, za mnoge SNP-se ne zna se uzrokuju li bilo kakve promjene u izražaju nekih svojstava ili su možda samo u blizini nekog gena (Špehar, 2013.). Ideja iskorištavanja genetskih markera u stočarstvu pojavila se 1983. godine, a u devedesetima je razvijena selekcija podržana markerima, odnosno MAS (engl. *marker assisted 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 su u činjenici da koristi mali broj markera za određene osobine te produžuje 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 (Svijet reprodukcije, 2011.).



Slika 1. SNP marker genotipa jedne životinje

(izvor: www.sheepcrc.au)

Najbolja linearna nepristrana procjena, odnosno BLUP (engl. *best linear unbiased prediction*) je statistička metoda koja je prvi put primjenjena 1970-tih, a danas je standardna za genetsku procjenu stoke na većinu svojstava (Henderson, 1976.). BLUP metoda uzima u obzir sve raspoložive informacije o svojstvima predaka, vlastitim svojstvima i svojstvima srodnika i potomaka, kao i utjecaj vanjskih čimbenika na ta svojstva (Uremović i sur., 2002.). Prema Calusu (2009.) postoji nekoliko nedostataka ove metode za procjenu uzgojne vrijednosti. Jedan od njih je da su nužne fenotipske informacije same jedinice ili bliskih srodnika kako bi se što točnije procijenila uzgojna vrijednost životinje. Osim toga, BLUP favorizira bliske srodnike što onda dovodi do povećanja inbridinga i 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 cjelokupne populacije goveda (Svijet reprodukcije, 2011.).

Padom cijene genotipizacije i razvojem mikročipova (npr. Illumina SNP50K čip) omogućena je genotipizacija oko 50.000 genetskih markera u cjelokupnom genomu goveda. Time se otvorila mogućnost uključivanja dodatnog izvora informacija u selekcijski

rad koji je poznat pod nazivom genomska selekcija (Špehar, 2013.). Genomska selekcija podrazumijeva korištenje genetičkih informacija koje se mogu dobiti izravnom analizom genoma (DNK) životinje za što raniji i bolji opis njezine rasplodne vrijednosti. To je omogućilo dešifriranje genoma goveda i razvijanje postupaka njegove analize uz pomoć kojih se brzo i ekonomski povoljno može ispitati mnogo tisuća lokusa gena istovremeno, kao i utvrđivanje velikog broja genetskih markera.

3.1. Postupak genotipizacije

Cilj genomske selekcije je združiti sve poznate izvore informacija – fenotip, porijeklo i genetske markere da bi se dobila što veća točnost procijenjene uzgojne vrijednosti i osigurao genetski napredak. Prije samog testiranja potrebno je uzeti uzorak biološkog materijala (krv, sjeme, folikul dlake ili sluznica) iz kojeg se u laboratoriju izolira DNK. Postupak izolacije vrlo čiste DNK je vrlo složen i uključuje rezanje restrikcijskim endonukleazama, radioaktivno ili neradioaktivno obilježavanje, ligaciju, uporabu specijalnih deterdženata, lužina, organskih otapala i enzima. Nakon izolacije DNK provodi se genotipizacija, koristeći Illumina SNP50K čip. Genotipizacija je metoda za određivanje genetske varijacije bez sekvenciranja cijelog genoma. Rezultat genotipizacije su signali za svaki od 50.000 SNP-sa koji se računski pretvaraju u SNP genotip (AA, AB ili BB). Time se dobije rezultat (genotip) za svaki od 50.000 SNP-sa za životinju koja je genotipizirana. Poznavanje genotipa za veliki broj SNP-sa još uvijek ne govori o uzgojnoj vrijednosti životinje. Zato je potrebno ocijeniti utjecaj pojedinog SNP-sa koristeći SNP jednadžbu. Suma utjecaja svih SNP-sa koristeći SNP jednadžbu predstavlja genomsku uzgojnu vrijednost (gUV) genotipizirane životinje (Špehar, 2013.). Upravo je glavna prednost genomske selekcije da se za životinju odmah po provedenoj genotipizaciji može izračunati genomska UV temeljem SNP jednadžbe koja je izračunata na referentnoj, dovoljno velikoj populaciji bikova. Referentnu populaciju čine progeno testirani genotipizirani bikovi. Izračunom genomske UV za mlade životinje generacijski se interval u selekciji bikova može skratiti na dvije ili tri godine. Pouzdanost procijenjene UV u tom slučaju iznosi u prosjeku oko 65% i nije bolja nego kod progenog testa, ali ranija informacija omogućava veći godišnji genetski napredak nego progeni test. Zbog manje pouzdanosti procijenjene UV primjenom genomske informacije, u praksi se koristi više mladih genomske testiranih

bikova. Taj način selekcije je priznat od odgovornih međunarodnih organizacija (Interbull) pa se sjeme takvih bikova može slobodno tržiti po cijelome svijetu. Pored selekcije bikova, ova tehnologija se može koristiti i za selekciju krava za koje možemo procijeniti UV na isti način i s istom točnošću (Špehar, 2013.).



Slika 2. Illumina BovineSNP50K čip

(izvor:http://res.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf)

3.1.1. Lančana reakcija polimerazom

Lančana reakcija polimerazom (engl. Polimerase Chain Reaction, PCR) smatra se jednim od najznačajnijih otkrića koje je odigralo ključnu ulogu u povećanju intenziteta razvoja i primjene molekularne genetikе u ispitivanju genetske varijabilnosti populacija biljaka, životinja i ljudi. Ovaj proces razvili su Mullis i sur. 1986. godine. Osnovne značajke ovog procesa su u tome što omogućavaju reprodukciju velikog broja pojedinih regija DNK (Jovanovac, 2013.). Lančana reakcija polimeraze (PCR) je metoda koja omogućava umnožavanje određenog fragmenta dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) u *in vitro* uvjetima. U cilju inicijacije procesa replikacije odnosno umnožavanja DNK potrebne su dvije informacijske sekvence koda koje se nazivaju početnice ili „primeri“. Reprodukcijske tisuće kopija željenih kromosomskih regija ili gena odvija se u ponavljajućim ciklusima sinteze i denaturalizacije (lančane separacije) DNK pomoću

temperaturnih promjena. Budući da su početnice specifične sekvence spajaju se samo s determiniranim regijama DNK, dobija se samo specifična amplifikacija željene sekvence DNK umjesto cijele DNK (Jovanovac, 2013.). Lančana reakcija polimerazom sastoji se od tri osnovna koraka: (1) denaturacije dvolančane DNK matrice (najčešće na temperaturi od 95°C), (2) hibridizacije specifičnih oligonukleotida koji se nazivaju prajmeri (amplimeri) i DNK matrice i (3) ekstenzije prajmera. Ekstenzija prajmera je katalizirana *Taq* ili nekom drugom termostabilnom DNK polimerazom. Tri navedena koraka čine jedan ciklus PCR-a koji se tokom reakcije ponavlja 20–45 puta pri čemu se željeni fragment DNK umnoži 106–109 puta. Analiza produkata lančane reakcije polimeraze obavlja se uz pomoć različitih elektroforeza (na agarozu, poliakrilamidu, SSCP, DGGE i drugim), sekvenciranjem (utvrđivanjem redoslijeda nukleotida u umnoženom fragmentu), ELISA (Enzyme Linked Immuno Assay) testovima ili Southern blot hibridizacijom. Prisustvo gena u izuzetno velikom broju od milijun do milijardu kopija olakšava, prije svega, njegovu detekciju, a zatim i analizu eventualnih izmjena njegove nukleotidne strukture. Lančana reakcija polimeraze – PCR postala je nezaobilazna metoda u molekularnim istraživanjima. Lako se izvodi i obično zahtijeva manje vremena za postizanje rezultata od mikrobioloških metoda. Vrijeme potrebno da se istraživač bez predznanja osposobi za rad ovom tehnikom je oko tjedan dana, što je znatno kraće od mikrobioloških tehnika gdje je potrebno veliko znanje i iskustvo.

3.1.2. Genske karte

Da bi mogućnosti molekularne genetike uporabili na primjeren način u govedarskoj i ostaloj stočarskoj 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 poznatih segmenata genoma popunjavanjem prerastaju u “gensku kartu”. Što su istraženi fragmenti dulji, njihova informativnost je veća (Ivanković, 2005.). Genske karte goveda i ostalih domaćih životinja temelj su razumijevanja djelovanja genoma i aplikacije zapaženih genetskih markera u praktične uzgojno selekcijske

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 (Ivanković, 2005.). 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 1 000 000 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 (Caput i sur., 2010.).

3.2. Genetski markeri

Kao što je poznato, genomski selekcija podrazumijeva korištenje genetičkih informacija koje se mogu dobiti izravnom analizom genoma (DNK) životinje. 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 monogenetski i relativno lako ih je locirati. Na takva monogenetska proizvodna svojstva može se vrlo učinkovito djelovati pomoću MAS metode ugradnjom odgovarajućih genetskih markera. 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 pod kontrolom većeg broja gena i poznata su pod nazivom kvantitativna ili poligena svojstva. Istraživanjem povezanosti molekularnogenetičkih markera s poligenim 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*). Genetski

markeri predstavljaju genetske razlike između pojedinih organizama ili vrsta. Oni ne predstavljaju ciljne gene, ali djeluju kao biljezi i 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 genetskih markera: morfološki (vidljivi), biokemijski i DNK (molekularni) markeri.

3.2.1. Molekularni DNK markeri

Molekularni DNK markeri su najčešće korištena vrsta markera. Oni mogu otkriti genetske varijacije na razini DNK ulomaka. Molekularni markeri su jedan od najmoćnijih sredstava genomske analize i pružaju mogućnost povezivanja nasljednih osobina sa genomskim varijacijama (Teneva i sur., 2013.). Varijabilnost među organizmima je zapravo rezultat varijacije u DNK sekvencama i utjecaja okolišnih čimbenika. Varijacije DNK su mutacije koje nastaju zamjenom pojedinačnih nukleotida (SNP), umetanjem ili brisanjem DNK fragmenata različitih duljine (od jednog do nekoliko tisuća nukleotida), ili umnožavanjem ili inverzijom DNK fragmenata.

Zastupljenost molekularnih markera unutar genoma je vrlo velika. Slijede tipičan način Mendelovog nasljeđivanja. Neki od njih pokazuju kodominantni, a neki polimorfni učinak. Nisu pod utjecajem okolišnih čimbenika i nemaju pleiotropni učinak na kvantitativna svojstva (Jovanovac, 2013.). DNK markeri su prepoznatljivo mjesto na kromosomu čije se nasljeđivanje može pratiti. Markeri mogu biti geni ili češće neki segment DNK nepoznatog kodiranja, ali čije se nasljeđivanje može pratiti. Neutralni su, odnosno nisu nosioci gena jer se najčešće nalaze na nekodirajućoj regiji DNK. Neograničeni su u broju i za razliku od biokemijskih i morfoloških markera na njih ne utječu okolišni čimbenici (Collard i sur., 2005.). Korist od molekularnih markera je višestruka. Otkrivanje varijacija ili polimorfizama specifičnih regija DNK molekula koje postoje između jedinki u populaciji može koristiti za izgradnju genetskih mapa, što znači da genom životinje može biti poznat u velikoj mjeri ili u potpunosti. Procjena razlika između markera u ekspresiji pojedinih svojstava u jednoj skupini jedinki mogu upućivati na genetsku različitost ili sličnost. Važni su za utvrđivanje stupnja povezanosti između lokusa kvantitativnih svojstava i markera, a mogu se koristiti za izradu genetskih mapa, analizi lokusa kvantitativnih svojstava i otkrivanju major gena (Jovanovac, 2013.). 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). SNP se može nalaziti unutar kodirajuće sekvence gena i u nekodirajućim regijama. U kodirajućim regijama mogu biti direktno povezani s funkcijom bjelančevina. Budući da su stabilni u pogledu nasljeđivanja, vrlo su pogodni markeri za dugoročnu selekciju (Jovanovac, 2013.). 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 DNK 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.

3.2.1.1. Mikrosateliti

Mikrosateliti (engl. *simple sequence repeats*, SSRs) su najvažniji i najpogodniji markerski sustav u molekularno genetskim istraživanjima budući da su visoko polimorfni i pogodni za pojedinačnu tipizaciju DNK, odnosno izradu genetskog profila jedinke. To su najinformativniji genetski markeri. Predstavljaju kratke ponavljajuće nukleotidne sekvence (od 2 do 6 nukleotida), ravnomjerno razdijeljene po genomu na više od sto tisuća lokusa (Weber i May, 1989.). Predstavljaju nekodogeni dio DNK, te se često nazivaju “otpadna DNK” (engl. *junk DNK*). 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 (insercija ili delecija) jednoga ili više osnovnih motiva. Struktura mikrosatelita može biti popunjena (CACACACACACACA), prekinuta (CACACACAggggCACACA) ili sastavljena (CACACACAGTGTGTGTCACA). Rašireni su po cijelom genomu i lako se umnožavaju korištenjem PCR tehnike (Lančana reakcija polimerazom ili engl. *Polimerase Chain Reaction*). U odnosu na ostale genetske markere mikrosateliti su relativno kratki, do 500 pb, a najčešće između 50 i 150 pb, te se zbog toga mogu umnožiti iz vrlo male količine DNK. Zbog toga se mikrosateliti često koriste u istraživanju forenzičkih i arheoloških materijala. Mogu se izdvojiti iz različitih izvora kao što su dlaka, krv i koža. Polimorfizam

se može uočiti na gelu za sekvencioniranje pomoću automatskog sekvencera, a tim se načinom može dobiti vrlo veliki broj uzoraka. Heterozigotnost im je sedam do deset puta viša nego kod RFLP markera (Polimorfizam duljine restrikcijskih ulomaka ili engl. *Restriction Fragment Length Polymorphism*). Našli su široku primjenu u identifikaciji životinja, utvrđivanju očinstva, otkrivanju bolesti, otkrivanju genetskih različitosti između pasmina i u filogenetskim istraživanjima. Visok stupanj polimorfizma u broju ponavljanja omogućava njihovu uporabu kao lokacijskih markera pri genomskom mapiranju za proizvodna i funkcionalna svojstva (Jovanovac, 2013.), što je od velikog značaja za uvođenje genomske selekcije u govedarstvo.

3.2.1.2. Polimorfizmi jednog nukleotida (SNP)

DNK sekvencioniranje omogućuje otkrivanje polimorfizma jednog nukleotida odnosno varijacija sekvenci DNK. Polimorfizam jednog nukleotida (engl. *Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) predstavlja najzanimljiviji pristup u genotipizaciji. Često se nazivaju i „snip“. Kada se na jednom mjestu u genomu ili unutar para kromosoma jedne jedinke nalaze dva različita nukleotida, tada se zapravo radi o njihovom polimorfizmu. Primjerice, dva sekvencionirana DNK fragmenta iz različitih jedinka, AAGCCTA i AAGCTTA, sadrže razliku u jednom nukleotidu. U ovom slučaju radi se o dva različita alela, u jednom je citozin, a u drugom timin. SNP se može nalaziti unutar kodirajuće sekvence gena i u nekodirajućim regijama. U kodirajućim regijama mogu biti direktno povezani s funkcijom bjelančevina, a budući da su stabilni u pogledu nasljeđivanja, vrlo su pogodni markeri za dugoročnu selekciju. To su bialelni markeri i ukazuju na specifične polimorfizme u samo dva alela unutar populacije (Jovanovac, 2013.). Kao bialelni markeri, sadrže prilično mali broj informacija, ali stalnim razvojem molekularne tehnologije, dolazi do povećanja automatizacije i smanjenja troškova SNP tipiziranja. Većina SNP-ova nalazi se u nekodirajućim regijama i nemaju izravni utjecaj na fenotip jedinke.

3.3. Otkrivanje lokusa kvantitativnih svojstva (QTL)

Mapiranje lokusa na kromosomima odnosi se na identifikaciju lokusa kvantitativnih svojstava (QTL), a temelji se na lokalizaciji svih markera te protein-kodirajućih markera. Otkrivanje lokusa kvantitativnih svojstava (QTL) ima velik značaj u povećanju učinkovitosti uzgoja i selekcije životinja, a posebice za svojstva s niskim heritabilitetom ili za spolno vezana svojstva. Osobito je važno što omogućava identifikaciju gena koji uzrokuju ili su pak nosioci predispozicije za neke bolesti. 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 (engl. *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). Za otkrivanje QTL-a koriste se dva pristupa i to analiza kandidatnih gena (engl. *the candidate gene approach*) i kartiranje QTL-a.

3.3.1. Analiza kandidatnih gena

Analiza kandidatnih gena pretpostavlja da gen koji sudjeluje u fiziologiji određenog svojstva mutacijom uzrokuje varijaciju tog svojstava. Gen ili dijelovi gena su sekvencionirani kod brojnih jedinki i sve moguće varijacije u DNK slijedu uspoređuju se s 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 nije smatran očitim kandidatom za promatrano svojstvo (Hayes, 2007.).

3.3.2. Kartiranje QTL-a

Kartiranjem QTL-a identificiraju se područja kromosoma koja su povezana s varijacijama fenotipskih svojstava. QTL kartiranje podrazumijeva da nisu identificirani geni koji utječu na kvantitativne osobine. Umjesto toga, ovaj pristup koristi neutralne DNK

markere i traži povezanost između varijacije alela na markerima i varijacije kvantitativnih svojstava. Kada su DNK 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.). Postoje dva glavna načina kartiranja: izrada genske mape ili mape vezanosti (engl. *linkage map*) i izrada fizičke karte. Izrada genske mape ili mape vezanosti koristi učestalost meiotičkih rekombinacija između lokusa kako bi se procijenila udaljenost između lokusa, a izradom fizičke karte se utvrđuje stvarna, fizička lokacija gena na kromosomu. Kartiranje QTL-a se postiže pretragom čitavog genoma (engl. *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.) ovu su metodu nazvali genomska selekcija i zaključili su 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. U ranoj primjeni QTL kartiranja postojao je vidljiv nedostatak. Zbog korištenja mape vezanosti bili su potrebni fenotipski podatci same jedinke-kandidata ili njenih bliskih srodnika. 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.).

3.4. Genomski procijenjena uzgojna vrijednost (gUV)

Zahvaljujući primjeni genomske selekcije, danas se sve više, odluke u selekciji donose na temelju genomski procijenjene uzgojne vrijednosti (gUV). Ova metoda selekcije osobito je važna u govedarstvu, gdje se izbor jedinki (kandidata) za rasplod temelji na genomski procijenjenoj uzgojnoj vrijednosti (gUV). To znači da se uzgojna vrijednost

procjenjuje na temelju zbroja učinaka mnoštva genetskih markera duž cijelog genoma obuhvaćajući sve lokuse kvantitativnih svojstava koji doprinose varijabilnosti svojstava (Hayes i sur., 2009.). Patry i Ducrocq (2011.) navode kako će daljnji razvoj genomske selekcije i povećanje dostupnosti genotipova, dovesti do povećanja pouzdanosti gUV-a. Ključno pitanje kod određivanja gUV-a je procjena učinaka pojedinih SNP alela na tražena svojstva. SNP učinci procjenjuju se 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, uspoređuju se sa prosjekom, a potom se zbrajaju za svaku jedinku, te se na taj način dobije indeks genomske selekcije (GS indeks)(Veerkamp i Calus, 2009.). Fenotipske informacije mogu biti dobivene iz fenotipskih performansi samih jedinki iz referentne populacije, ali i iz uzgojne vrijednosti (UV). Povezivanjem genotipske i fenotipske informacije dobije se procjena za svaki SNP. Nakon toga slijedi genotipiziranje mladih jedinki za odabir kandidata čije su gUV 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. 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 genomske uzgojne vrijednosti je pouzdanije kada mlade jedinke dijele rodovnik s jedinkama iz referentne populacije, te je optimalna strategija za odabir referentne populacije ta da jedinke za izradu referentne populacije budu genetski usko povezane s mladim jedinkama - kandidatima. Točnost procjene ove uzgojne vrijednosti ovisi o veličini referentne populacije potrebne za postavljanje jednadžbi procjene, heritabiliteta svojstva i srodnosti između kandidata za selekciju i referentne populacije (Scheffers i Weigel, 2012.).

Meuwissen i sur. (2001.) navode kako uporaba molekularnih markera za procjenu genetske sposobnosti osigurava bržu genetsku dobit u usporedbi sa samo tradicionalnim odabirom. Međutim, prema Jandi (2011.) uzgojne vrijednosti bikova koji su konvencionalno testirani preko potomaka više su od 75%, što je veća pouzdanost u odnosu na pouzdanost genomske uzgojne vrijednosti mladih bikova. Jedan od problema kod genomske selekcije je taj što je još uvijek malen broj životinja koje su genotipizirane, pa je veliki problem kombinirati genomske i negenomske (konvencionalno testiranje) podatke svih jedinki, bez obzira da li su genotipizirane ili ne. Osim toga, neke jedinke imaju i UV i gUV, neke samo UV što stvara pomutnju kako stočarima tako i centrima za reprodukciju pri odabiru najprikladnije jedinke. Ipak, poželjno je koristiti sve dostupne informacije: genomske, fenotipske ili rodovnike za procjenu aditivne genetske vrijednosti bilo koje jedinke (Patry i Ducrocq, 2011.). Genotipiziranjem mladih jedinki dobiju se pouzdanije genetske ocjene nego što je ranije bilo moguće s roditeljskim prosjekom. Na taj način se puno bolje međusobno rangiraju mlade jedinke (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 uzgojne vrijednosti (UV). Podaci 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. Jedan od glavnih izazova genomske selekcije 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: regresija glavnih komponenti, stupnjevita regresijska analiza, metoda djelomičnih najmanjih kvadrata i Bayesova metoda. Habier i sur. (2009.) te Meuwissen i sur. (2001.) proveli su simulacijske studije kojima su uspoređivali navedene statističke metode, te su utvrdili da je Bayesova metoda najpouzdanija. Meuwissen i sur. (2001.) pokazali su 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. Markerima visoke gustoće mogu se 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.



Datum izračuna gUV: 03.12.2013.

Datum promjene: 09.12.2013.

GENOMSKA UZGOJNA VRIJEDNOST ŽIVOTINJE

Životni broj životinje: HR 9101912269 Spol: M Datum rođenja: 28.02.2010.
Datum uzimanja uzorka: 10.12.2012. Uzgajivač životinje: Emina Burek
Rang u odnosu na polubraču: 76/101 Napomena:

OTAC:	OO: MALEFIZ DE 0915079575	OOO: GS MALF AT 040568233 OOM: HOFDAME DE 0914717920
MANDELA DE 0935684041	OM: SEEROSE DE 0932853801	OMO: HODACH DE 0911331078 OMM: ROSALIE DE 0917050948
MAJKA: ALPE DE 0934215373	MO: LOTARRY DE 0802724000 MM: ALAPIS DE 0930270548	MOO: LOTUS DE 0922565884 MOM: LIESA DE 0803513154 MMO: MMM:

Svojstvo	Informacije o porijeklu	Genomski optimizirana UV (goUV)	Pouzdanost goUV (%)	Direktna genomski vrijednost (DGV)	Pouzdanost (%)	Pedigre indeks (PI)	Pouzdanost (%)
Ukupni SI	ok	107	69	104	68	117	40
IMLI	ok	102	69	100	68	116	40
IMES	ok	101	63	100	61	102	33
FITNES	ok	109	69	109	69	106	38
Mlijeko (kg)	ok	75	64	-43	63	479	40
Mast (kg)	ok	-3,8	69	-7,6	68	16,0	40
Bjelančevine (kg)	ok	7,1	60	3,5	59	20,4	39
Mast (%)	ok	-0,1	69	-0,08	68	-0,05	40
Bjelančevine (%)	ok	0,06	60	0,07	59	0,05	40
Neto dn. prirast (g/dan)	ok	99	65	99	63	101	34
Randman	ok	98	59	98	57	98	33
EUROP klase	ok	105	64	104	61	106	33
Dugovječnost	ok	109	63	109	63	99	32
Perzistencija	ok	107	69	109	68	96	40
Zdravlje vimena	ok	105	71	105	71	100	50
Broj somatskih stanica	ok	106	67	106	67	103	38
Protok mlijeka	ok	106	68	106	68	101	35
Lakoća teljenja (p)	ok	108	65	107	64	115	39
Lakoća teljenja (m)	ok	101	59	101	58	105	38
Mrtvorodena telad (p)	ok	97	61	97	60	107	38
Mrtvorodena telad (m)	ok	95	56	94	56	104	37
Okvir	ok	98	68	98	68	102	32
Mišićavost	ok	114	64	114	64	109	32
Noge	ok	118	60	118	60	114	32
Vime	ok	99	64	99	64	96	32
Visina križa	ok	97	68	97	68	100	32
Duljina trupa	ok	95	66	95	66	99	32
Širina zdjelice	ok	94	65	94	65	103	32
Dubina trupa	ok	111	65	111	65	107	32
Položaj zdjelice	ok	110	65	110	65	105	32
Kut skočnog zgloba	ok	106	64	106	64	103	32
Izraženost skoč. zgloba	ok	107	63	107	63	103	32
Putice	ok	115	64	115	64	112	32
Visina papaka	ok	110	56	110	56	114	32
Duljina pr. vimena	ok	103	64	103	64	106	32
Duljina str. vimena	ok	105	64	105	64	104	32
Kut pr. vimena	ok	104	60	104	60	101	32
Susp. Ligament	ok	92	62	92	62	98	32
Dubina vimena	ok	97	66	97	66	92	32
Duljina sisa	ok	97	67	97	67	104	32
Debljina sisa	ok	101	66	101	66	106	32
Položaj zad. sisa	ok	99	66	99	66	93	32
Smještaj pr. sisa	ok	103	66	103	66	102	32
Čistoća vimena	ok	94	65	94	65	98	32
Duljina zdjelice	ok	97	65	97	65	103	32
Plodnost	ok	102	57	102	57	105	45
Plodnost-mat. komp.	ok	103	52	103	51	107	33

Slika 3. Rezultati procjenjene genomske uzgojne vrijednosti

(izvor: http://stoka.hpa.hr/UzgojneVrijednosti/Web/cattle/doc/gUV_9101912269.pdf)

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.).

Genomski procijenjena uzgojna vrijednost može se izračunati za oba spola u ranoj fazi života, a time i genomski selekcija može povećati profitabilnost i ubrzati genetsku dobit u uzgoju mliječnih goveda smanjenjem generacijskog intervala i troškova dokazanih bikova. 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. Najveća prednost genomske selekcije je njen potencijal za procjenu gUV s visokom točnošću tijekom nekoliko generacija bez ponovnog fenotipiziranja, što rezultira nižim troškovima i kraćim generacijskim intervalima. 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 markera velika, a heritabilnost niska (de Ross i sur., 2009.).

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 teljenja jedinke, ili čak i ranije ukoliko se može uzeti uzorak. Prednost primjene genomske pretrage je znatno pouzdanija genetska procjena mladih mliječnih bikova u usporedbi s prethodno primjenjivanim procjenama genetske vrijednosti koje su se temeljile na prosječnim dokazima o roditeljima. Najveća točnost genomske procjene postignuta je na holštajn 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. 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 DNK iz uzoraka tkiva, krvi ili sjemena jedinke (Weigel, 2010.). 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.). Naime, tele naslijeđuje pola gena od oca pola od majke, ali uvijek u različitoj kombinaciji. To čini svakog potomka jedinstvenim, a kako bi se saznalo koje je točno gene tele naslijedilo od kojeg roditelja koristilo se progeno testiranje. U budućnosti, uspješnost progenog testiranja će se značajno povećati jer će unaprijed biti poznato da li je mladi bik naslijedio povoljan uzorak gena svojih roditelja i prije početka njegovog korištenja za rasplod. Rezultati DNK-testiranja roditelja značajno utječu na smanjenje pogrešaka pri identifikaciji kćeri, što je također jedna od prednosti u odnosu na tradicionalne metode. 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.). Najznačajniji doprinos genotipiziranja tako mladih jedinki je značajno smanjenje generacijskog intervala. U mliječnom govedarstvu genomska selekcija

omogućuje uzgajivačima identifikaciju genetski superiorne životinje u mnogo ranijoj dobi. Odnosno, DNK testirane jedinke mogu dobiti točne gUV prije nego što dosegnu spolnu zrelost. Na žalost, troškovi DNK testiranja za svaku jedinku su dosta visoki. Iz tog razloga, DNK 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. Većina mladih bikova će biti izlučena iz uzgoja upravo na osnovu rezultata DNK testiranja što u konačnici ipak smanjuje troškove jer se na ovaj način smanjuje broj mladih bikova koji se progeno testiraju (Rogers i sur., 2008.). Indeks genomske selekcije (GS indeks) mladih bikova treba imati pouzdanost usporedivu s indeksom progenog testiranja, no još uvijek nije postignuta ista razina 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, smanjuje se trošak uzgoja. Pored većeg genetskog napretka, genomska selekcija omogućava i bolju kontrolu porijekla i sprečavanje uzgoja u srodstvu, a 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.

3.5. Uvođenje genomske selekcije u govedarstvo Republike Hrvatske

S ciljem postizanja trajnog i konkurentnog razvoja govedarstva, a pritom prateći svjetske trendove, tijekom 2012. godine započete su aktivnosti uvođenja genomske selekcije u govedarstvo Republike Hrvatske. Svrha genomske selekcije je očuvanje i unapređenje proizvodnje mladih bikova iz hrvatske populacije, temeljem odabira i genotipizacije teladi iz domaćeg uzgoja. Na ovaj način bi mladi bikovi prije ulaska u test osjemenjivanja imali genomsku uzgojnu vrijednost (gUV) koja bi s određenom razinom pouzdanosti govorila koja će svojstva taj bik poboljšati na svojem potomstvu (Špehar, 2013.). Činjenica je da Hrvatska nema dovoljno veliku referentnu populaciju za razvoj

vlastite SNP jednadžbe, pa je stoga potrebno uključivanje u jedan od velikih sustava. Prema tome razmatrane su mogućnosti uključivanja hrvatske populacije u sustav genomskog testiranja Njemačke i Austrije (DEU/AT sustav). Prije samog ulaska u sustav Hrvatskoj je pružena mogućnost da dostavi uzorke krvi muške teladi za procjenu genomske uzgojne vrijednosti te je na taj način procijenjena genomska uzgojna vrijednost (gUV) za 18 kandidata simentalske pasmine i 17 kandidata holštajn pasmine. Sporazum o ulasku Hrvatske u DEU/AT sustav genomskog testiranja potpisan je u srpnju 2013. godine, a plan je da se godišnje pošalje oko 150 uzoraka krvi teladi za koje bi se dobio izračun genomske uzgojne vrijednosti. Najvažniji korak u samom postupku ove selekcije je odabir teladi za genotipizaciju. Jedan od kriterija odabira teladi za genotipizaciju je na osnovi tzv. pedigree indeksa koji se računa temeljem uzgojne vrijednosti roditelja. U slučaju da je za neku osobinu pouzdanost procjene uzgojne vrijednosti za majku niska, pedigree indeks se formira samo po očevoj strani. Također, važno je napomenuti da se u obzir ne uzimaju potomci onih očeva (bikova) koji su se prestali koristiti za umjetno osjemenjivanje, a još jedan od kriterija je i linearna ocjena eksterijera majke (vanjština). Nakon provedene genotipizacije dobije se izračun genomske uzgojne vrijednosti za određenu telad koja se izračunava u sklopu DEU/AT sustava. Ona uključuje procjenu genomske uzgojne vrijednosti za ukupni selekcijski indeks (SI), a pored toga prikazani su i indeksi za mliječnost (IMLI), mesnatost (IMES), lakoću teljenja (paternalna i maternalna komponenta), skupne ocjene za okvir, noge i vime te uzgojne vrijednosti za pojedinačna svojstva.

Špehar (2013.) navodi kako se uvođenjem genomske selekcije pruža mogućnost osiguranja dovoljnog broja mladih kvalitetnih bikova iz domaćeg uzgoja s dobrom genomskom uzgojnom vrijednošću i da će oni osigurati poboljšanje određenih svojstava u njihovim stadima i brži genetski napredak, dok će ženska grla sa zadovoljavajućom genomskom UV biti osnova za odabir budućih bikovskih majki. Pored većeg genetskog napretka, prednosti genomske selekcije su kraći generacijski interval, kontrolira se porijeklo goveda i sprječava uzgoj u srodstvu.

4. ZAKLJUČAK

Razvojem genomske selekcije, odnosno procjene uzgojne vrijednosti goveda na osnovi genoma, otvorena je mogućnost da se mladi rasplodnjaci mogu koristiti u rasplodu ranije negoli je to bilo konvencionalnim putem. Genomska selekcija i na osnovi nje izračunate uzgojne vrijednosti stavljaju nove izazove i mogućnosti pred uzgajivača i provedbu uzgojnog programa. Glavna je prednost genomske selekcije da se za životinju odmah po provedenoj genotipizaciji može izračunati genomska uzgojna vrijednost temeljem SNP jednadžbe. Budući da se životinje genotipiziraju pri rođenju, genomska selekcija omogućava smanjenje generacijskog intervala, značajno se smanjuju troškovi testiranja i dolazi do dodatnog povećanja genetskog napretka i selekcijskog inentzитета. Također, ovom metodom se kontrolira porijeklo goveda i smanjuje uzgoj u srodstvu. Cilj uvođenja genomske selekcije je odabirom životinja za testiranje iz domaće populacije goveda, unaprijediti uzgoj goveda u Republici Hrvatskoj. Kombiniranjem genomske i klasične selekcije, uzgajivač ima mogućnost ranije donijeti odluku o uzgoju pojedine životinje što onda znatno smanjuje troškove njegove proizvodnje.

5. POPIS LITERATURE

- 1) Avise, J. C. (2004): The hope, hype, and reality of genetic engineering, Oxford University Press. New York.
- 2) Calus, M. P. L. (2009): Genomic breeding value prediction: methods and procedures. *Animal* 4 (2), 157–164.
- 3) Caput P., Ivanković A., Mioč, B. (2010): Očuvanje biološke raznolikosti u stočarstvu. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 2010.
- 4) Caput, P. (1996): Govedarstvo. Prosvjeta d.d., Bjelovar.
- 5) Cassell, B. (2010): Genetic Improvement Using Young Sires With Genomic Evaluations, (http://pubs.ext.vt.edu/404/404-090/404-090_pdf.pdf). 24.02.2014.
- 6) Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer J. B., Pang, E. C. K. (2005): An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142, 169–196.
- 7) de Roos A. P. W., Hayes, B. J., Goddard, M. E. (2009): Reliability of genomic predictions across multiple populations. *Genetics* 183, 1545–1553.
- 8) Falconer, D.S., Mackay, T.F.C. (1996): Introduction to Quantitative Genetics. Fourth edition. Longman Group Ltd.
- 9) Genomika - disciplina koja se najbrže razvija. Svijet reprodukcije, Časopis za uzgajivače i veterinare 9/ 2011. br. 4, (http://www.crsh.hr/files/0587_1_katalogbikovi2011_rujan_238_2.pdf), 10.02.2014.
- 10) Habier, D., Fernando, R. L., Dekkers, J. C. M. (2007): The Impact of Genetic Relationship Information on Genome-Assisted Breeding Values. *Genetics* 177, 2389–2397.
- 11) Habier, D., Fernando, R. L., Dekkers, J. C. M. (2009): Genomic Selection Using Low-Density Marker Panels. *Genetics* 182, 343–353.
- 12) 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.
- 13) Henderson, C. R. (1976). A simple method for computing the inverse of a numerator relationship matrix used in prediction of breeding values. *Biometrics* 32-69.

- 14) Hrvatska poljoprivredna agencija, Odjel za procjenu uzgojne vrijednosti: (http://stoka.hpa.hr/UzgojneVrijednosti/Web/cattle/doc/gUV_9101912269.pdf), 19.02.2014.
- 15) Illumina: Illumina BovineSNP50 Genotyping BeadChip (http://res.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf), 15.02.2014.
- 16) Ivanković, A. (2005): Uporaba molekularne genetike u animalnoj proizvodnji. *Stočarstvo* 59(2), 121-144.
- 17) Ivanković, A. (2012): Genomska selekcija u govedarstvu. *Uzgoj goveda (1848-2163)* 2, 1; 12-13.
- 18) Janda, D. (2011): Uloga genomske selekcije u uzgoju. *Mljekarstvo* 9, 4-5.
- 19) Jovanovac, S. (2013): Principi uzgoja životinja, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, 356.
- 20) Matulić, D., Ivanković, A., Aničić, I. (2009): Potpomognuta selekcija u akvakulturi. *Ribarstvo* 67 (1), 25-39.
- 21) Meuwissen, T. H. E., Hayes, B. J., Goddard, M. E. (2001): Prediction of Total Genetic Value Using Genome - Wide Dense Marker Maps. *Genetics* 157, 1819–1829.
- 22) Moxon, E. R., Wills, C. (1999): DNA Microsatellites: Agents of Evolution?. *Scientific American*, 72-77.
- 23) Patry, C., Ducrocq, V. (2011): Accounting for genomic preselection in national BLUP evaluations in dairy cattle. *Genetics Selection Evolution*, 43(30).
- 24) Rogers, G. W., Van Tassell, C. P., Van Raden, P. M., Wiggans, G. R. (2008): Four ways genomic selection will change dairy cattle genetic improvement in the near future. Progressive Dairyman Publishing.
- 25) Schefers, J. M., Weigel, K. A. (2012): Genomic selection in dairy cattle: Integration of DNA testing into breeding programs. *Animal Frontiers* 2 (1), 4-9.
- 26) Sheep CRC: (www.sheepcrc.au), 15.02.2014.
- 27) Sullivan, P. (2009): Options for Combining Direct Genomic and Progeny-Test Results. Genetic Evaluation Board Meeting, June 24, 2009.
- 28) Špehar, M. (2013): Genetsko vrednovanje i uvođenje genomske selekcije u govedarstvo Republike Hrvatske. *Mljekarski list* 50(6):8-11.

- 29) Teneva, A., Dimitrov, K., Petrović, C. V., Petrović, M., Dimitrova, I., Tyufekchiev, N., Petrov, N. (2013). Molekularna genetika i SSR markeri kao nova praksa u genomskoj analizi farmskih životinja u reprodukciji i kontroli bolesti. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 29(3), 405-429.
- 30) Tier, B., Crump, R., Moser, G., Sölkner, J., Thomson, P. C., Woolaston, A., Raadsma, H. W. (2007): Genome wide selection: issues and implications. *Proceeding of Association for the Advancement of Aand genetics* 17, 308 – 311.
- 31) Uremović, Z., Uremović, M., Pavić, V., Mioč, B., Mužić, S., Janječić, Z. (2002): *Stočarstvo. Agronomski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu*, 55, 74.
- 32) Veerkamp, R., Calus, M. P. L. (2009): Genomics revolution. *Veepromagazine* 71, 4-6.
- 33) 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.
- 34) Weigel, K. (2010): *Understanding Genomics and Its Applications on a Commercial Dairy Farm. High Plains Dairy Conference. Amarillo, Texas.*
- 35) Wiggans, G. R., Vanraden, P. M., Cooper, T. A. (2011): The genomic evaluation system in the United States: past, present, future. *Journal of Dairy Science* 94(6), 3202-3211.

6. SAŽETAK

Govedarstvo je najvažniji sektor stočarske proizvodnje i od iznimne je važnosti za poljoprivredu Republike Hrvatske. Govedarstvo u Republici Hrvatskoj ima izvrsne prirodne uvjete proizvodnje, ali je uz vrlo lošu strukturu i nerazvijeno tržište postala jako ovisna o uvozu. S ciljem postizanja trajnog i konkurentnog razvoja govedarstva, a pritom prateći svjetske trendove, tijekom 2012. godine dolazi do uvođenja genomske selekcije u govedarstvo Hrvatske. Genomska selekcija podrazumijeva korištenje genetičkih informacija koje se mogu dobiti izravnom analizom genoma (DNK) životinje za raniji i bolji opis njezine rasplodne vrijednosti. To je omogućilo dešifriranje genoma goveda i razvijanje postupaka njegove analize uz pomoć kojih se brzo i ekonomski povoljno može ispitati mnogo tisuća lokusa gena istovremeno, kao i utvrđivanje velikog broja genetskih markera. Cilj genomske selekcije je združiti sve poznate izvore informacija – fenotip, porijeklo i genetske markere da bi se dobila što veća točnost procijenjene uzgojne vrijednosti (UV) i osigurao genetski napredak. Genomska selekcija i na osnovi nje izračunate uzgojne vrijednosti stavljaju nove izazove i mogućnosti pred uzgajivača i provedbu uzgojnog programa. Uzgojni programi u govedarstvu zadnjih godina uvođenjem genomske selekcije doživljavaju značajne zaokrete, a o čemu se zadnjih godina vode i brojne rasprave.

Ključne riječi: govedarstvo, genomska selekcija, genetski markeri

7. SUMMARY

Cattle production is the most important sector of livestock production and is of great importance for the Croatian agriculture. Cattle in the Republic of Croatia has excellent natural conditions of production but with a very poor and underdeveloped market structure has become heavily dependent on imports. With a view to achieving a lasting and competitive development of cattle breeding, and while following global trends, in 2012. comes to the introduction of genomic selection in cattle breeding in Croatia. Genomic selection involves the use of genetic information that can be obtained by direct analysis of the genome (DNK) of animals for earlier and more accurate description of its breeding value. This enabled the deciphering of the genome of cattle and developing its analysis procedures by which quickly and economically beneficial can examine the locus of many thousands of genes simultaneously, and identification of a large number of genetic markers. The goal of genomic selection is to pair all known sources of information - phenotype, origin and genetic markers to obtain the highest possible accuracy of estimated breeding values (BV) and provide genetic progress. Genomic selection and on its basis predicted breeding values placed new challenges and opportunities for the breeder and the implementation of a breeding program. By the introduction of genomic selection in recent years, breeding programs in cattle experience significant turning points, whereof in the last years numerous controversies are being conducted.

Keywords: cattle, genomic selection, genetic markers

8. POPIS SHEMA I SLIKA

Shema 1.

Čimbenici o kojima ovisi selekcijski učinak (izvor:Jovanovac, 2013.)	6
---	---

Shema 2.

Informacije koje se mogu koristiti za procjenu uzgojne vrijednosti (UV) jedinke (izvor:Jovanovac, 2013.).....	8
--	---

Slika 1.

SNP marker genotipa jedne životinje (izvor:www.sheepcrc.au).....	13
---	----

Slika 2.

Illumina BovineSNP50K čip (izvor: http://res.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf).....	15
---	----

Slika 3.

Rezultati procjenjene genomske uzgojne vrijednosti (izvor: http://stoka.hpa.hr/UzgojneVrijednosti/Web/cattle/doc/gUV_9101912269.pdf)...	25
---	----

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Sveučilišni diplomski studij Zootehnika, smjer Specijalna zootehnika

Diplomski rad

Primjena genomskih informacija u selekciji goveda

Marijana Vrbančić

Sažetak

Govedarstvo je najvažniji sektor stočarske proizvodnje i od iznimne je važnosti za poljoprivredu Republike Hrvatske. Govedarstvo u Republici Hrvatskoj ima izvrsne prirodne uvjete proizvodnje, ali je uz vrlo lošu strukturu i nerazvijeno tržište postala jako ovisna o uvozu. S ciljem postizanja trajnog i konkurentnog razvoja govedarstva, a pritom prateći svjetske trendove, tijekom 2012. godine dolazi do uvođenja genomске selekcije u govedarstvo Hrvatske. Genomska selekcija podrazumijeva korištenje genetičkih informacija koje se mogu dobiti izravnom analizom genoma (DNK) životinje za raniji i bolji opis njezine rasplodne vrijednosti. To je omogućilo dešifriranje genoma goveda i razvijanje postupaka njegove analize uz pomoć kojih se brzo i ekonomski povoljno može ispitati mnogo tisuća lokusa gena istovremeno, kao i utvrđivanje velikog broja genetskih markera. Cilj genomске selekcije je združiti sve poznate izvore informacija – fenotip, porijeklo i genetske markere da bi se dobila što veća točnost procijenjene uzgojne vrijednosti (UV) i osigurao genetski napredak. Genomska selekcija i na osnovi nje izračunate uzgojne vrijednosti stavljaju nove izazove i mogućnosti pred uzgajivača i provedbu uzgojnog programa. Uzgojni programi u govedarstvu zadnjih godina uvođenjem genomске selekcije doživljavaju značajne zaokrete, a o čemu se zadnjih godina vode i brojne polemike.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku; Zavod za specijalnu zootehniku

Mentor: doc. dr. sc. Nikola Raguž

Broj stranica: 38

Broj grafikona i slika: 5

Broj tablica: 0

Broj literaturnih navoda: 35

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: govedarstvo, genomska selekcija, genetski markeri

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Sonja Jovanovac, predsjednik
2. doc. dr. sc. Nikola Raguž, mentor
3. prof. dr. sc. Pero Mijić, član

Rad je pohranjen u: knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilište u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agriculture in Osijek
Graduate University Studies Zootechnique, course of Special zootechnique

Graduate thesis

Application of genomic information in cattle breeding programs

Marijana Vrbančić

Abstract

Cattle production is the most important sector of livestock production and is of great importance for the Croatian agriculture. Cattle in the Republic of Croatia has excellent natural conditions of production but with a very poor and underdeveloped market structure has become heavily dependent on imports. With a view to achieving a lasting and competitive development of cattle breeding, and while following global trends, in 2012. comes to the introduction of genomic selection in cattle breeding in Croatia. Genomic selection involves the use of genetic information that can be obtained by direct analysis of the genome (DNK) of animals for earlier and more accurate description of its breeding value. This enabled the deciphering of the genome of cattle and developing its analysis procedures by which quickly and economically beneficial can examine the locus of many thousands of genes simultaneously, and identification of a large number of genetic markers. The goal of genomic selection is to pair all known sources of information - phenotype, origin and genetic markers to obtain the highest possible accuracy of estimated breeding values (BV) and provide genetic progress. Genomic selection and on its basis predicted breeding values placed new challenges and opportunities for the breeder and the implementation of a breeding program. By the introduction of genomic selection in recent years, breeding programs in cattle experience significant turning points, whereof in the last years numerous controversies are being conducted.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek, Department of Special Zootechnics

Mentor: Nikola Raguž, Ph.D., Assistant Professor

Number of pages:38

The number of figures:5

Number of tables:0

Number of references:35

Number of appendices:0

Original in: Croatian

Key words: cattle, genomic selection, genetic markers

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. Sonja Jovanovac, Ph.D., Full Professor, president
2. Nikola Raguž, Ph.D., Assistant Professor, mentor
3. Pero Mijić, Ph.D., Full Professor, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d.