

## Rezultati genomske selekcije i web aplikacija

Mr.sc. Marija Špehar, HPA

Govedarstvo predstavlja najvažniji sektor stočarske proizvodnje i od ključnog je značaja za poljoprivredu Republike Hrvatske. S ciljem postizanja što boljih proizvodnih rezultata a time i ekonomske dobiti, potrebno je pored unapređenja tehnologije proizvodnje provoditi i selekciju sukladno uzgojnom programu. Provođenje uzgojnog programa bilo je ograničeno tijekom zadnjeg desetljeća zbog slijedećih čimbenika: a) centri za umjetno osjemenjivanje započeli su s procesom privatizacije i postali tržišno usmjereni; b) pored opravdanog uvoza kvalitetnih bikova iz drugih uzgoja, došlo je i do uvoza prosječnih bikova koji ne osiguravaju očekivani genetski napredak u uzgoju; c) 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, a koji ujedno omogućavaju prilagodbu uvjetima uzgoja u našem podneblju te doprinose ukupnoj genetskoj raznolikosti. S ciljem postizanja trajnog i konkurentnog razvoja govedarstva, a prateći svjetske trendove, tijekom 2012. godine započele su aktivnosti uvođenja genomske selekcije u govedarstvo Hrvatske.

### Što je genomska selekcija?

U posljednjih nekoliko godina, tradicionalne metode selekcije su nadopunjene genetskim analizama jedinki temeljenim 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 DNA 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. Iz tog razloga testirano je više od 50.000 SNP-sa kako bi se utvrdila njihova povezanost s izražajem određenog svojstva.



Slika 1. Illumina BovineSNP50K čip

(Izvor Illumina: [http://res.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet\\_bovine\\_snp50.pdf](http://res.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf))

Padom cijene genotipizacije (iznosi između 100 i 130 € po životinji) i razvojem mikročipova (npr. Illumina SNP50K čip; slika 1) omogućena je genotipizacija 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. 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. Prije samog testiranja potrebno je uzeti uzorak biološkog materijala (najčešće se koristi krv, sjeme, folikul dlake ili sluznica) iz kojeg se u laboratoriju izolira DNA i provede genotipizacija (koristeći spomenuti Illumina SNP50K čip). 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 UV životinje. Zato se potrebno ocjeniti utjecaj pojedinog SNP-sa koristeći SNP jednadžbu. Suma utjecaja svih SNP-sa koristeći SNP jednadžbu predstavlja genomsku UV genotipizirane životinje.

### **Zašto genomska selekcija?**

Upravo je glavna prednost genomske selekcije da se za životinju odmah po provedenoj genotipizaciji može izračunati genomska UV temeljem SNP jednadžbe. Ova jednadžba je izračunata na referentnoj, dovoljno velikoj populaciji bikova. Referentnu populaciju čine progeno testirani i genotipizirani bikovi. Izračunom genomske UV za mlade životinje se generacijski interval kod selekcije bikova može skratiti na dvije ili tri godine. Pouzdanost procijenjene genomske UV iznosi u prosjeku oko 65 % i nije bolja nego kod progenog testa (genotipizacija daje ekvivalent informacije kao 20 do 30 kćeri) ali ranija informacija omogućava veći godišnji genetski napredak u usporedbi sa progenim testom. Zbog manje pouzdanosti procijenjene UV primjenom genomske informacije, u praksi se koristi više mladih genomski testiranih bikova. Ovaj 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 se procijenjuje genomska UV na isti način uz istu točnost kao i kod bikova.

### **Uvođenje genomske selekcije u govedarstvo Republike Hrvatske**

Kao što je već spomenuto u uvodnom dijelu, ova suvremena uzgojna metoda uvedena je u govedarstvo Republike Hrvatske. Svrha joj 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 UV koja bi s određenom razinom pouzdanosti govorila koje će osobine taj bik 'poboljšati' na svojem potomstvu. Aktivnosti uvođenja genomske selekcije započele su u svibnju 2012. godine kada je u organizaciji Hrvatske poljoprivredne agencije održana stručna radionica 'Primjena genomske selekcije u sklopu nacionalnog uzgojnog programa goveda' s ciljem upoznavanja sudionika provedbe uzgojnog programa o mogućnostima njenog uvođenja u govedarstvo Republike Hrvatske. Između sudionika provedbe uzgojnog programa dogovorena je suradnja te su najprije pripremljene procedure o načinu provedbe genomske selekcije. Tijekom 20. Međunarodnog jesenskog sajma u Gudovcu potpisan je Sporazum o primjeni genomske selekcije u uzgojnom programu goveda od strane svih sudionika provedbe uzgojnog programa: središnjih saveza (Središnji savez hrvatskih uzgajivača simentalskog goveda – H.U.SIM i Savez udruga hrvatskih uzgajivača Holstein goveda – SUHUH), Hrvatske poljoprivredne agencije, centara za umjetno osjemenjivanje goveda (Centar za reprodukciju Križevci, Centar za u.o. Varaždin, Centar za unapređenje stočarstva Osijek, Centar za stočarstvo Slavonski Brod) i znanstvenih institucija

(Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za opće stočarstvo i Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet).

### **Primjena genomske selekcije kod simentalne pasmine**

Obzirom da Hrvatska nema dovoljno veliku referentnu populaciju za razvoj vlastite SNP jednadžbe, potrebno je uključiti se u jedan od velikih sustava. Zahvaljujući suradnji na području harmonizacije uzgojnog programa za simentalnu pasminu između Hrvatske i Bavarske, razmatrane su mogućnosti uključivanja hrvatske simentalne populacije u sustav genomskog testiranja Njemačke i Austrije (Italije i Češke). Ovaj je postupak opravdan budući da je uzgoj simentalne pasmine u Republici Hrvatskoj uvelike povezan sa uzgojima u Bavarskoj i Austriji. Pored odabira bikovskih očeva i majki iz navedenih populacija, prisutan je i dugogodišnji uvoz steonih junica te sjemena bikova koji se koriste za umjetno osjemenjivanje na hrvatskoj populaciji krava. To otvara mogućnost i provedbe zajedničkog testiranja bikova na populaciji krava u Bavarskoj i Hrvatskoj.

Hrvatskoj je bila pružena mogućnost da prije ulaska u sustav genomskog testiranja Njemačke i Austrije (DEU/AT sustav) dostavi uzorke krvi teladi za procjenu genomske UV. Na taj je način izražena spremnost uključivanja Hrvatske u ovaj sustav genomske procjene. U periodu od prosinca 2012. do ožujka 2013. godine dostavljeno je 18 uzoraka krvi muške teladi za koje je nakon provedene genotipizacije u ovlaštenom laboratoriju u Njemačkoj procijenjena genomska UV za ovu telad. Odluka o ulasku Hrvatske u DEU/AT sustav genomskog testiranja u koji su još uključene Italija i Češka donešena je u srpnju 2013. godine kada se sastali partneri provedbe genomske selekcije s njemačke i austrijske strane. Sporazum o ulasku Hrvatske u DEU/AT sustav genomskog testiranja potpisan je između dvaju saveza uzgajivača simentalne pasmine: H.U.SIM-a s hrvatske i ASR-a (Arbeitsgemeinschaft Süddeutscher Rinderzucht) s njemačke strane. Nakon službenog ulaska Hrvatske u spomenuti sustav, planira se godišnje slanje oko 150 uzoraka krvi teladi za koje bi se dobio izračun genomske UV. Provođenje genomskog testiranja financira H.U.SIM. U razmatranju je i participacija uzgajivača u cijeni genotipizacije.

Prvi korak u provođenju postupaka genomske selekcije je odabir teladi za genotipizaciju. Telad se odabire na osnovi tzv. pedigre indeksa koji se računa temeljem UV roditelja. Za ona svojstva gdje je pouzdanost procjene UV niska za majku, pedigree indeks se formira samo po očevoj strani. Pored UV roditelja, kao kriterij odabira se uzima se i 'starost genetike' tj. u obzir se ne uzimaju potomci onih očeva (bikova) koji su se prestali koristiti za umjetno osjemenjivanje. Slijedeći je kriterij i 'vanjšina' majke tj. linearne ocjene eksterijera. Odabir teladi provodi se u suradnji uzgajivačkog odbora H.U.SIM-a, te Odjela za razvoj govedarstva i Odjela za procjene UV Hrvatske poljoprivredne agencije. Uzimanje uzoraka biološkog materijala teladi za genotipizaciju na terenu provode predstavnici centara za umjetno osjemenjivanje nakon preuzimanja liste kandidata za uzorkovanje i epruveta sa barkodom. Uzorci biološkog materijala šalju se u laboratorij (GeneControl) u Njemačkoj i nakon provedene genotipizacije, u roku od jednog do dva mjeseca dobije se izračun genomske UV za genotipiziranu telad. Ona je izražena na njemačkoj skali tj. izračunata je u sklopu DEU/AT sustava. Uključuje procjenu genomske UV za ukupni selekcijski indeks – SI (koji je onima koji prate UV u sklopu DEU/AT sustava poznat pod nazivom gesamtzuchtwert), pored kojeg su prikazani 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 (slika 2).

The image shows a document titled 'GENOMSKA UZGOJNA VRIJEDNOST ŽIVOTINJE' (Genomic Breeding Value of the Animal). It includes the HPA logo and contact information. The document is dated 05.03.2013. It lists the animal's identification number (Životinjski broj životinje: 188-0206270179) and the date of the genomic evaluation (Datum računanja uvjeta: 05.03.2013.). Below this, there are several small tables for different traits, such as 'IMES', 'IMES (maternalna)', 'IMES (paternalna)', 'IMES (skupna)', 'IMES (noge)', and 'IMES (vime)'. The main part of the document is a large table with columns for 'Svojstvo' (Trait), 'Vrijednost' (Value), 'Standard' (Standard), 'Rang' (Rank), 'Rang u odnosu na polubraču' (Rank relative to half-siblings), 'Vlasnik' (Owner), and 'Polubraču' (Half-siblings). The table contains numerous rows of data for various traits.

Slika 2. Rezultati procjenjene genomske uzgojne vrijednosti

Na internetskoj stranici Hrvatske poljoprivredne agencije u sklopu Odjela za procjene UV prikazani su, pored procedura i sheme provedbe genomske selekcije, i rezultati genomskog testiranja. Za svaku genotipiziranu životinju prikazana je UV za pojedine sklopove, kao i UV za pojedinačna svojstva, porijeklo genotipizirane životinje, rang u odnosu na polubraču i vlasnik teleta ([http://stoka.hpa.hr/UzgojneVrijednosti/Web/cattle/1303/\\_main\\_gen.html](http://stoka.hpa.hr/UzgojneVrijednosti/Web/cattle/1303/_main_gen.html)).

### Primjena genomske selekcije kod Holstein pasmine

U svrhu postizanja zajedničke suradnje i harmonizacije uzgojnog programa Holstein pasmine u Hrvatskoj sa uzgojnim programom ove pasmine u Njemačkoj, organiziran je posjet Verden-u koji je središte uzgoja Holstein pasmine u Njemačkoj. Naime, u Hrvatskoj većina uvezenih junica i krava Holstein pasmine (oko 70%) potječe iz populacije u Njemačkoj. Poseban naglasak ove suradnje dat je mogućnosti uvođenja genomske selekcije. Trenutno je jedna od njih genotipizacija muške teladi iz hrvatskog uzgoja i izračun genomske UV u sklopu njemačkog sustava kroz suradnju s centrom za u.o. Masterrind. Temeljem ove suradnje procjenjena je genomska UV za 17 kandidata. S njemačkim partnerima se razgovaralo o mogućnosti genotipizacije ženske teladi iz hrvatskog uzgoja i provedbi zajedničkog genomskog testiranja. Predstavljene su dvije mogućnosti genotipizacije. Prva je vezana uz slanje biološkog materijala životinje i genotipizaciju u jednom od njemačkih laboratorija. Nakon provedene genotipizacije, genomska UV za genotipizirana ženska grla bi se računala u okviru njemačkog sustava i izražavala na njemačkoj skali. Druga mogućnost je slanje očitnog mikročipa za ženska grla i izračun genomske UV u okviru njemačkog sustava. U ovom slučaju bi se SUHUH sam trebao pobrinuti za postupak genotipizacije.

Možemo zaključiti da se uvođenjem genomske selekcije pruža mogućnost osiguranja dovoljnog broja mladih kvalitetnih bikova **iz domaćeg uzgoja** s dobrim genomskim testom tj. genomskom UV (slika 3). Ovi bikovi koji će biti smješteni u centrima za umjetno osjemenjivanje i korišteni u sustavu umjetnog osjemenjivanja će osigurati uzgajivačima 'poboljšanje određenih svojstava' u njihovim stadima i brži genetski napredak. Ujedno se pruža i mogućnost zajedničkog testiranja

hrvatskih bikova na populaciji krava u Njemačkoj i Austriji. Ženska grla koja imaju zadovoljavajuću genomsku UV biti će osnova za odabir budućih bikovskih majki. Pored većeg genetskog napretka, poznavanje velikog broja genetskih markera omogućava i bolju kontrolu porijekla i sprečavanje uzgoja u srodstvu.

Kada se govori o genomskoj selekciji, čest je zaključak da kontrola mliječnosti i drugih svojstava više nije potrebna. Međutim, SNP-si nisu geni već se samo nalaze u njihovoj blizini, pa zbog rekombinacije između gena i SNP-sa, pouzdanost procijene UV pada iz generacije u generaciju ako nema novih podataka iz kontrole proizvodnih i funkcionalnih svojstava. Iz tog razloga je pri uvođenju genomske selekcije i dalje potrebno provoditi prikupljanje fenotipskih podataka u okviru kontrole proizvodnosti i porijekla i periodično obnavljati SNP jednadžbu. Genetske i okolišne razlike između populacija različitih zemalja vode i do razlika između SNP jednadžbi pa je stoga nužno planirati razvoj i prilagodbu ove jednadžbe i za naše okolišne uvjete.

**Prednosti genomske selekcije**

- Izračun genomske uzgojne vrijednosti već pri rođenju životinje koja je genotipizirana
- Kraći generacijski interval
- Veći genetski napredak
- Kontrola porijekla goveda
- Sprečavanje uzgoja u srodstvu

**Ciljevi genomske selekcije**

- Očuvanje i unapređenje proizvodnje mladih bikova iz hrvatske populacije
- Odabir gena tipično za životinje iz domaće populacije goveda
- Dovoljan broj kvalitetnih mladih domaćih bikova koji će osigurati genetski napredak
- Odabir ženske teladi za buduće bikovske majke

**GENOMSKA SELEKCIJA U GOVEDARSTVU REPUBLIKE HRVATSKE**

**SLUŽBA ZA GENETSKO VREĐNOVANJE I OČUVANJE ANIMALNIH GENOTIPOVA Odjel za procjene uzgojnih vrijednosti**

Ilica 101, Zagreb  
Tel: 01 3763-176  
Fax: 01 3763-192  
E-mail: biomel@hpa.hr

**Šta je genomska selekcija?**

Genomska selekcija je suvremena uzgojna metoda koja združuje sve poznate izvore informacija, a to su fenotip, porijeklo životinje i genetske oznake da bi se dobila što veća točnost procijenjene uzgojne vrijednosti i osigurao genetski napredak.

doprinosi uspješnosti selekcije goveda na način da omogućava otkrivanje lokacija gena u genomu koji utječu na gospodarski značajna svojstva (dnevna količina mlijeka, neto priroda, kvaliteta trupova i sl.).

**Zašto genomska selekcija?**

Genomska selekcija omogućava procjenu uzgojnih vrijednosti za bikove i krave pri njihovom rođenju čime se znatno skraćuje generacijski interval, a samim time povećava godišnji genetski napredak. Cilj uvođenja genomske selekcije je odabir životinja za testiranje iz domaće populacije goveda, unapređeni uzgoj goveda u Republici

**Na koji način se provodi genomska selekcija?**

Genomska selekcija se temelji na odabiru i genotipizaciji teladi iz hrvatskog uzgoja. Genotipizacija je postupak određivanja genotipa jedinke na temelju biološkog materijala (mrt, folikula dlake, sluznice, sperme) pomoću tzv. SNP markera. Kandidati za genotipizaciju mogu biti i odrasle životinje ako su njihove uzgojne vrijednosti nadprosječne ili njihovo porijeklo iskazuje na genetsku superiornost. Rezultati genotipizacije evidentiraju se u matične knjige, a mogu se koristiti za pohranu rodiljelstva.

**Tko provodi genomsku selekciju?**

U provedbi genomske selekcije sudjeluju Srednji savez uzgajivača goveda (HUSM) i SHTM, Hrvatsko poljoprivredna agencija, Centri za umjetno osjemenjivanje goveda i znanstvene institucije. Uzroke za genotipizaciju uzimaju Centri za umjetno osjemenjivanje, a postupak genotipizacije teladi provodi se u ovlaštenom laboratoriju "GeneControl" u Grubi (Njemačka).

**Tko ostvaruje pravo na genotipizaciju?**

Zahtjev za genotipizaciju životinje mogu podnijeti uzgajivači goveda simentske i Holsteinske pasmine koji su članovi udruga uzgajivača čija se stada nalaze pod uzgojno-selekcijom obuhvatom. Genotipizacija se provodi za životinje koje zadovoljavaju postavljenim kriterijima za genotipizaciju, a odnose se na porijeklo životinje i uzgojnu vrijednost njezinih roditelja.

**Koliko je cijena genotipizacije za uzgajivače goveda?**

Cijena genotipizacije i izdavanja genomske uzgojne vrijednosti za telad simentske pasmine goveda iznosi 220 € po životinji, dok za Holsteinske pasmine cijena genotipizacije po životinji iznosi oko 120 €.

**Kombiniranjem genomske i "klasične" selekcije uzgajivači imaju mogućnost ranije donijeti odluku o uzgoju pojedine životinje što znatno smanjuje troškove proizvodnje**

Slika 3. Promotivni letak o uvođenju genomske selekcije u govedarstvo Republike Hrvatske

Adresa autora:

Mr.sc. Marija Špehar  
Hrvatska poljoprivredna agencija  
Odjel za procjene uzgojnih vrijednosti  
Ilica 101, 10000 Zagreb  
e-mail: [mspemar@hpa.hr](mailto:mspemar@hpa.hr)