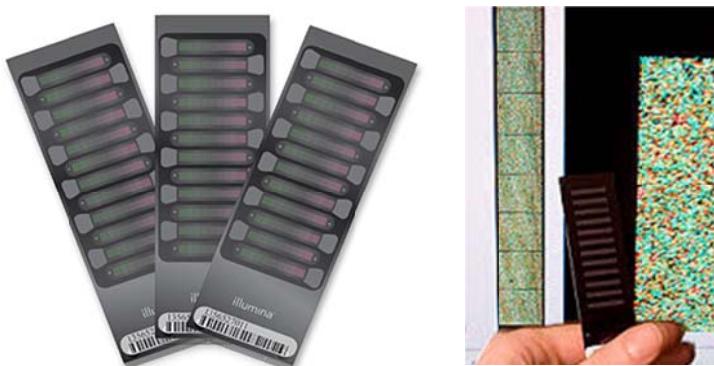


Genomskom selekcijom do kvalitetnih mladih bikova

Dr.sc. Marija Špehar, HPA

Govedarstvo predstavlja najvažniji sektor stočarske proizvodnje i od ključnog je značaja za poljoprivrednu Republiku Hrvatsku. S ciljem postizanja što boljih proizvodnih rezultata potrebno je pored unapređenja tehnologije proizvodnje provoditi i selekciju sukladno uzgojnog programu. U posljednjem desetljeću, 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 genske markere. Genski markeri označavaju određeno mjesto u genomu gdje se potencijalno nalaze geni. U genetske markere ubrajamo tzv. 'snip' (SNP) markere koji označavaju promjenu samo jedne nukleotidne baze u DNA molekuli. Poznato je na tisuće SNP-ova za koje se zna pozicija u genomu, a poslijedično i promjena nukleotidne baze. Međutim, za mnoge SNP-ove 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 54.000 SNP-ova kako bi se utvrdila njihova povezanost s izražajem određenog svojstva.



Slika 1. Illumina Bovine (LD, 50 v2, HD) SNP čip

(Izvor Illumina: <http://www.illumina.com/company/news-center/feature-articles/video--celebrating-10-years-of-infinium-array-powered-progress-.html>)

Razvojem mikročipova (npr. Illumina SNP50K čip; slika 1) omogućena je genotipizacija više od 54.000 genetskih markera u cjelokupnom genomu goveda, čime se otvorila mogućnost uključenja dodatnog izvora informacija u selektijski rad 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.

Glavna je 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

generacijski interval kod selekcije bikova se može skratiti na dvije do 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.

Aktivnosti uvođenja genomske selekcije u govedarstvo Republike Hrvatske započele su 2012. godine kada je tijekom održavanja 20. Međunarodnog jesenskog sajma u Gudovcu potpisana Sporazum o primjeni genomske selekcije u uzgojnem programu goveda od strane svih sudionika provedbe uzgojnog programa: Središnjeg saveza hrvatskih uzgajivača simentalskog goveda – H.U.SIM, 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). Svrha provođenja genomske selekcije je očuvanje i unapređenje proizvodnje mladih bikova iz hrvatske populacije temeljem odabira i genotipizacije teladi iz domaćeg uzgoja. Na ovaj način bi mlađi bikovi prije ulaska u test osjemenjivanja imali genomsku UV koja bi s određenim postotkom pouzdanosti govorila koje će osobine taj bik 'poboljšati' na svojem potomstvu.

Obzirom da Hrvatska nema dovoljno veliku referentnu populaciju za razvoj vlastite SNP jednadžbe, u srpnju 2013. godine donešena je odluka o uključenju Hrvatske u sustav genomskog testiranja Njemačke i Austrije (Italije i Češke) i to zahvaljujući suradnji na području harmonizacije uzgojnog programa za simentalsku pasminu između Hrvatske i Bavarske. Ovaj je postupak opravдан budući da je uzgoj simentalske 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 stonih 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.

Prvi korak u provođenju postupaka genomske selekcije je odabir teladi za genotipizaciju. Pored UV roditelja, kao kriterij odabira uzima se i 'starost genetike' tj. u obzir se ne uzimaju potomci onih očeva (bikova) koji su se prestali koristiti za umjetno osjemenjivanje (u.o.). Slijedeći je kriterij i 'vanjsina' 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 uzorka biološkog materijala teladi za genotipizaciju na terenu provode predstavnici centara za u.o. 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 koja je izražena na njemačkoj skali. Pri genomskom testiranju procjenjuje se direktna genomska uzgojna vrijednost (DGV) pojedinih svojstava temeljem informacija iz genetskih markera (SNP-ova) i genomski optimizirana uzgojna vrijednost (goUV) koja je 'kombinacija' DGV i uzgojne vrijednosti (UV) roditelja ako su njemačkog ili austrijskog porijekla i genetski su vrednovani u sustavu Njemačke i Austrije. DGV i goUV se procjenjuju za ukupni selekcijski indeks – SI (koji je onima koji prate UV u sklopu DEU/AT sustava poznat pod nazivom Gesamtzuchtwert ili GZW), za indeks mlječnosti – IMLI, mesnatosti – IMES, fitnes, lakoću teljenja (paternalna i maternalna komponenta), skupne ocjene za okvir, noge i vime te UV za pojedinačna svojstva (slika 2).

Svojstvo	Genomska UV životinje				Izvor: DEA sustav
	Pedigree info	genomski optimizirana	direktna genomska	pedigree indeks	
	UV	Pouzd. (%)	UV	Pouzd. (%)	UV Pouzd. (%)
selekcijski nosak	ok	139	59	139	58 126 34
dvredni indeks mlječnosti	ok	134	59	134	59 121 35
indeks mesnatosti	ok	108	65	108	61 104 33
fitness	ok	110	67	110	67 111 31
dvrena kol. mlječka	ok	1018	63	1018	63 781 35
dvrena kol. masti	ok	50.1	69	50.1	59 36.4 35
dvrena kol. bjelančevina	ok	39.5	60	39.5	60 27.9 35
dvredni sačaj masti	ok	0.09	69	0.09	59 0.05 35
dvredni sačaj bjelančevina	ok	0.05	60	0.05	59 0.05 35
neto prirast	ok	106	67	106	63 103 33
randman	ok	109	62	109	57 104 32
klase mesa	ok	104	66	104	62 103 33
dugovježnost	ok	105	61	105	61 105 27
perzistencija	ok	108	69	108	59 108 35
zdravlje vrimena	ok	100	70	100	70 109 44
broj somatskih stanica	ok	101	67	101	67 107 35
protok mljeka	ok	125	68	125	68 111 35
lakoća tel. paternalna	ok	111	64	111	64 109 34
lakoća tel. maternalna	ok	107	59	107	59 101 33
broj mljek. tel. paternalni	ok	109	61	109	61 105 34
broj mljek. tel. maternalni	ok	115	56	115	56 111 32
skupina očj. okvir	ok	103	68	103	68 100 32
skupina očj. mlječavost	ok	89	64	89	64 99 31
skupina očj. noge	ok	103	59	103	59 103 30
skupina očj. vime	ok	111	64	111	64 113 32
vrisna križa	ok	106	68	106	68 101 32
duljina leđa	ok	109	66	109	66 101 32
širina zrelice	ok	95	65	95	65 97 32
dubina trupa	ok	94	64	94	64 99 32
policaj zrelice	ok	111	65	111	65 105 32
kut skoč. zgloba	ok	90	63	90	63 93 31
izraz skoč. zgloba	ok	95	63	95	63 97 31
putice	ok	101	64	101	64 103 31
vrisna papaka	ok	104	56	104	56 106 29
dulj. pred. vrimena	ok	114	64	114	64 111 32
dulj. zad. vrimena	ok	107	64	107	64 102 32
kut pred. vrimena	ok	103	61	103	61 106 31

nm - neponovljivo mesto u DEA sustav-u gen. vrijednost
no - neponovljivo mesto u DEA sustav-u gen. vrijednost
ge - generalni kontekst
bu

Slika 2. Rezultati genomskog vrednovanja (goUV i DGV)

Pri genomskom vrednovanju dobivaju se i informacije da li su životinje nositelji ili ispoljavaju slijedeće genske defekte: arahnomelija (A), patuljasti rast (DW), usporeni rast teladi (HF2), sindrom sličan nedostatku cinka (ZDL), trombopatija (TP), haplotip smeđeg goveda 2 (BH2), smanjena plodnost kod bikova (BMS), haplotip simentalskog goveda 4 (FH4) i haplotip simentalskog goveda 5 (FH5). Pored genskih defekata, pri genotipizaciji se određuju i genetske varijante kappa kazeina (k-kazein) i bezrožnosti. Genetske varijante kappa kazeina utječu na mlječnu bjelančevinu kazein a time i na proizvodnju sira. Poznate su dvije kappa kazeina: kappa-kazein A ili poželjnija varijanta kappa-kazein B, a time i tri varijante genotipa kappa kazeina: genotip AA, genotip AB i genotip BB. Svojstvo je najpoželjnije u obliku genotipa BB. Genotipizacijom se određuju i genetske varijante za bezrožnost. Genetska varijanta pp* upućuje na rogatost, dok PP označava bezrožnu telad.

Od ulaska u sustav genomskog testiranja do danas dobiveni su rezultati genomskih UV (DGV i goUV) za ukupno 177 teladi. Preporučeni kriterij za ulazak potencijalnih kandidata u centre za umjetno osjemenjivanje je **go UV za ukupan SI iznad 130, a ujedno kandidati ne smiju ispoljavati genske defekte niti biti nositelji istih**. Rezultati genotipizirane teladi hrvatskog simentalca ukazuju na visok genetski potencijal. U centre za umjetno osjemenjivanje do sada su preuzeta 4 muška grla u starosti od 12 mjeseci (Walbaso, Record, Zondar i Wamures), dok 3 teleta imaju izuzetne rezultate genomske uzgojnih vrijednosti i potencijalni su kandidati za odlazak u centre za u.o. Obzirom da se rezultati genomskog vrednovanja dobivaju na mjesecnoj razini za spomenute životinje biti će navedene genomske UV prilikom preuzimanja u centre, ali i vrijednosti dobivene pri zadnjem genomskom vrednovanju (prosinac 2015. godine).

WALBASO (ŽB – HR 8200279358, HB 8298, oteljen: 26.02.2013., uzgajivač: Đurđica Baršić) je bio prvi kandidat iz sustava genomskog testiranja koji je preuzet u Centar za u.o. goveda d.o.o. u Varaždinu. Otac teleta je njemački bik Waldbrand, a tele se od ukupno 466 Waldbrandovih potomaka genomske testiranih u sustavu Austrije i Njemačke nalazi među 50% teladi s najboljim rezultatima genomskog vrednovanja. Kada je preuzet u centar, njegova goUV za ukupni SI je iznosila 125, a nije bio nositelj niti je ispoljavao genske defekte. Imao je iznadprosječan rezultat genomske optimizirane UV za indeks fitnesa (123), dok su goUV za indeks mesnatosti (IMES) i lakoću teljenja (paternalna komponenta) bili za jednu standardnu devijaciju bolji od prosjeka populacije teladi u sustavu genomskog vrednovanja Njemačke i Austrije. Tijekom zadnjeg izračuna njegova goUV za ukupni SI je iznosila 119, a indeks fitnesa je pao za 2 boda. Walbaso je izlučen iz uzgoja nakon što je dao 5.000 doza sjemena.



Slika 3. Bik WALBASO

RECORD (ŽB – HR 2200474632, HB 8384, oteljen: 29.01.2014., uzgajivač: Igor Mihaljević) je prilikom dobivanja prvih rezultata genomskog vrednovanja zadovoljavao postavljene kriterije, te je preuzet u Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske d.o.o.

u Križevcima. Otac ovog mladog bika je njemački bik Raufbold, od čijih ukupno 12 genomske testiranih potomaka u sustavu Austrije i Njemačke najbolje rezultate genomske vrednovanja imao je upravo Record. Ujedno nije bio nositelj niti je ispoljavao genske defekte. Njegova goUV za ukupni SI je iznosila 130, dok je indeks mlijecnosti (IMLI) bio gotovo za dvije standardne devijacije bolji od prosjeka (122), tj. mesnatosti (IMES) za jednu standardnu devijaciju bolji od prosjeka (115). Visoka je goUV procijenjena i za protok mlijeka (125). U zadnjem krugu izračuna, njegova je goUV za ukupni SI iznosila 123, dok je IMLI pao na 116. Genomski optimizirana UV za IMES se nije promjenila, kao ni ona za protok mlijeka.



Slika 4. Bik RECORD

ZONDAR (ŽB – HR 6200460611, HB 8364, oteljen: 16.01.2014., uzgajivač: Ivan Imbrišić) je preuzet u Centar za unapređenje stočarstva u Osijeku. Otac mladog bika je austrijski bik Zocker, a bik se od ukupno 99 Zockerovih potomaka genomski testiranih u sustavu Austrije i Njemačke nalazi među 30% najboljih, te nije nositelj niti ispoljava genske defekte. Njegova goUV za ukupni SI je iznosila 126. Indeks mlijecnosti (IMLI) je bio vrlo dobar tj. blizu dvije standardne devijacije bolji od prosjeka (120), dok je indeks fitnesa bio za jednu standardnu devijaciju bolji od prosjeka (115). U zadnjem krugu izračuna, njegova je goUV za ukupni SI pala na 117, IMLI na 113, a fitnes na 112. I za ostala svojstva je došlo do pada goUV za 1 do 2 boda.



Slika 5. Bik ZONDAR

WAMURES (ŽB – HR 5200410884, HB 8639, oteljen: 14.04.2014., uzgajivač: Zlatko Mužinić) je preuzet u centar za u.o. goveda d.o.o. u Varaždinu. Otac mladog bika je njemački bik Waldbrand, a bik se od ukupno 466 Waldbrandovih potomaka genomske testiranih u sustavu Austrije i Njemačke nalazi među 30 s najboljim rezultatima genomske vrednovanja. Genomska optimizirana UV za ukupni SI je iznosila 131 prilikom prvog izračuna, čime je zadovoljio kriterije za odlazak u centar za u.o. i korištenje pri umjetnom osjemenjivanju na populaciji krava simentalske pasmine u Hrvatskoj. Njegov je indeks mlijecnosti (IMLI) bio skoro za dvije standardne devijacije bolji od prosjeka (122), a imao je odličan rezultat genomske optimizirane UV za indeks fitnesa (117). Genomska optimizirana UV za skupne ocjene nogu (116), kao i za protok mlijeka (112) bile su za jednu standardnu devijaciju bolje od prosjeka populacije teladi u sustavu genomske vrednovanja Njemačke i Austrije. Genomska optimizirana UV za preostala svojstva vanjštine bolja su od prosjeka populacije. I u zadnjem krugu izračuna genomske UV, bik je zadržao visoke goUV (ukupni SI – 129, IMLI – 119, fitnes – 118, skupne ocjene nogu – 112, skupne ocjene vime – 110, protok mlijeka - 112).



Slika 4. Bik WAMURES

Tri kandidata koja zadovoljavaju kriterije za odlazak u centre za u.o. su:

HR 5200564705 (oteljen: 18.02.2015., uzgajivač: Igor Mihaljević). Otac teleta je njemački bik Reumut, koji se nalazi među tri najbolja progeno testirana bikova u Njemačkoj i Austriji po vrijednosti ukupnog SI. Bik Reumut ima 535 genomske testirane potomka u sustavu Austrije i Njemačke, a tele životnog broja HR 5200564705 je drugo rangirano po polubraći tj. samo jedan potomak ovog bika imaju bolju goUV za ukupan SI. Ujedno je ovo tele po vrijednosti goUV za ukupan SI među dvadeset najbolje genomske testirane teladi u sustavu genomskega testiranja Njemačke i Austrije, a ne ispoljava niti jedan genetski defekt niti je nositelj istih. Od prosinca 2015. godine u sustavu genomskega testiranja se prati još jedan genetski defekt, a to je haplotip simentalskog goveda 5 (FH5). Obzirom da je bik Reumut nositelj genetskog defekta s nestrpljenjem se očekuju rezultati testiranja za ovo tele u veljači 2016. godine. Tele ima **goUV za ukupni SI od 139**, a njegova goUV za indeks mliječnosti (IMLI) je za tri standardne devijacije bolja od prosjeka populacije (134), što ujedno potvrđuje i apsolutna goUV za mlijeko (+1018 kg). Tele ima iznadprosječan rezultat goUV za protok mlijeka (125), kao i visoke vrijednosti goUV za skupnu ocjenu vimena (111), fitnes (110), lakoću teljenja (111) i indeks mesnatosti (IMES – 108). Genomske optimizirane UV za ostala svojstva vanjsštine tj. okvir i noge (103) su također bolje od prosjeka populacije genotipizirane teladi. Ovo tele svojim rezultatima ukazuje na izuzetan genetski materijal što ga čini potencijalnim kandidatom za korištenje za u.o. na populaciji krava simentalske pasmine ne samo u Hrvatskoj već i u Austriji i Njemačkoj. Za očekivati je da će i rezultati progenog testa potvrditi njegov genetski potencijal.

HR 0200636960 (oteljen: 14.05.2015., uzgajivač: Damir Horvatić). Otac teleta je njemački bik Manigo, koji se nalazi među 20 najboljih progeno testiranih bikova u Njemačkoj i Austriji po vrijednosti ukupnog SI. Visok genetski potencijal ovog teleta potvrđuje i njegov rang po polubraći budući da je među 15 najbolje rangirane teladi čiji je otac bik Manigo (13/352). Tele ne ispoljava niti jedan genetski defekt niti je nositelj istih. To je osobito važno jer je majčin otac bik Wille, trenutno najbolji progeno testirani bik u sustavu Njemačke i Austrije, za kojeg je poznato da je jedan od najpoznatijih nositelja genetskog defekta patuljastog rasta (DW). Tele ima goUV za **ukupni SI od 131** čime zadovoljava kriterije za odlazak u centar za u.o. i korištenje pri u.o. na populaciji krava simentalske pasmine u Hrvatskoj. Osim toga, ima odličan rezultat goUV za fitnes (130), indeks mliječnosti (IMLI – 123) i kao i za indeks nogu i vimena (124). Ovo je tele također potencijalni kandidat za korištenje u dvojnom testiranju tj. za umjetno osjemenjivanje populacije krava simentalske pasmine u Hrvatskoj, te u Austriji i Njemačkoj.

HR 0200596071 (oteljen: 18.08.2015., uzgajivač: Emina Burek). Ovo je tele 'dobra kombinacija gena' predaka. Otac teleta je njemački bik Hutter, koji ima poželjne rezultate progenog testa na indeks mliječnosti (IMLI – 124), mesnatosti (IMES – 113) i skupne ocjene za vime (110). Majčin je otac bik Imposium koji je 'popravio' protok mlijeka, lakoću teljenja i somatske stanice. Ovo tele ima visok genetski potencijal koji potvrđuje i njegov rang po polubraći – nalazi se među 10% najbolje rangirane teladi čiji

je otac bik Hутera (68/745). Tele ne ispoljava niti jedan genski defekt, ali je nositelj dva genska defekta (BMS i FH4) koji međutim ne pripadaju kategoriji letalnih defekata stoga ne zahtjevaju eliminaciju odnosno izlučenje teleta. Ono što ovo tele čini dodatno zanimljivim je poželjni genotip za kappa-kazein (BB). Tele ima goUV za **ukupni SI od 130** čime zadovoljava kriterije za odlazak u centar za u.o. i korištenje pri umjetnom osjemenjivanju na populaciji krava simentalske pasmine u Hrvatskoj. Osim toga, tele ima goUV za indeks mlijecnosti (IMLI) za dvije standardne devijacije bolju od prosjeka populacije (127). Isto tako su goUV za jednu standardnu devijaciju veće od prosjeka populacije za slijedeća svojstva: skupna ocjena vimena (118), fitnes (113) i protok mlijeka (113). Za očekivati je da će i ovo tele biti odabранo od strane centara i korišteno za umjetno osjemenjivanje populacije krava simentalske pasmine u Hrvatskoj.

Rezultati genomskog testiranja prikazani su na internetskoj stranici Hrvatske poljoprivredne agencije u sklopu Odjela za procjene UV. Za svaku genotipiziranu životinju prikazana je goUV za pojedine sklopove, kao i goUV za pojedinačna svojstva, porijeklo genotipizirane životinje, rang u odnosu na polubraću i vlasnik teleta (https://stoka.hpa.hr/UzgojneVrijednosti/Web/cattle/_int/dea/1512/_main_gen.html).

Možemo zaključiti da je uvođenje genomske selekcije u sklopu uzgojnog programa goveda uspješno provedeno jer je dalo izvrsne rezultate i osiguralo preuzimanje mladih kvalitetnih bikova **iz domaćeg uzgoja** s nadprosječnim genomskim UV u centre za u.o. Ovi će bikovi biti korišteni na populaciji krava simentalske pasmine u sustavu u.o. i osigurati će 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 genomsку 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 mlijecnosti i drugih svojstava više nije potrebna. Međutim, SNP-ovi nisu geni već se samo nalaze u njihovoj blizini, pa zbog rekombinacije između gena i SNP-ova, pouzdanost procijene UV pada iz generacije u generaciju ako nema novih podataka iz kontrole proizvodnih i funkcionalnih svojstava. Iz tog razloga je i dalje potrebno provoditi prikupljanje fenotipskih podataka u okviru kontrole proizvodnosti i porijekla i periodično obnavljati SNP jednadžbu.

Adresa autora:

Dr.sc. Marija Špehar
Hrvatska poljoprivredna agencija
Odjel za procjene uzgojnih vrijednosti
Ilica 101, 10000 Zagreb
e-mail: mspehar@hpa.hr