

GENETSKI MONITORING U SAVREMENOM SVINJARSTVU* *GENETIC MONITORING IN CONTEMPORARY SWINE PRODUCTION*

Mila Savić, S. Jovanović, Ružica Trailović, V. Dimitrijević**

Razvoj molekularnih tehnika za proučavanje genoma je doveo do kvalitativnog napretka u selekciji domaćih životinja, omogućivši da se, sem fenotipskih selekcionih parametara u odabiru jedinki, koriste i genetski markeri.

Genetski monitoring ima široku primenu u savremenom svinjarstvu. Naime, u osnovi svih postupaka koji se odnose na odabir roditeljskih parova je genetska kontrola. Tako se genetski monitoring koristi u genetskoj karakterizaciji rasa, linija (proceni genetskog drifta i izračunavanju genetičke udaljenosti), identifikaciji transgenih životinja (introdukcija gena), identifikaciji i kontroli porekla jedinke. Poseban kvalitet genetskog monitoringa je mogućnost korišćenja genetskih markera u prenatalnom testiranju jedinki.

*Dosadašnji rezultati projekta mapiranja genoma svinja već su identifikovali nekoliko gena značajnih za rezistenciju prema uzročnicima nekih obolenja (*F 18+* *E. coli* rezistentan), stresu, kao i gene značajne za ekonomski važna svojstva (RN), koji se kao komercijalni testovi rutinski koriste u genetskom monitoringu svinja.*

Ključne reči: genetika svinja, selekcija

Uvod / Introduction

Primenom savremenih metoda molekularne biologije i biotehnologije u odgoju životinja, kroz selekciju i ukrštanje moguće je značajno i brzo modifikovati pojedine karakteristike životinja. Radi se o multidisciplinarnom postupku koji zahteva angažovanje stručnjaka različitih obrazovnih profila, koji su uključeni u genetski monitoring populacije i dizajniranje odgajivačkih planova.

Istorijski gledano, genetski monitoring populacija započinje procesom domestikacije. Promena genetičkih struktura rano domesticiranih životinja

* Rad pripremljen za štampu 15. 5. 2002. godine

** Dr Mila Savić, vanredni profesor, dr Slobodan Jovanović, redovni profesor, mr Ružica Trailović, asistent, mr Vladimir Dimitrijević, asistent, Katedra za stočarstvo, Fakultet veterinarske medicine, Beograd.

bazirala se na proceni varijabilnosti fenotipskih svojstava i odabiru najpoželjnijih varijanti. Ovaj vid kontrole se u početku odnosio na lako merljiva svojstva, a sa povećanjem tehničkih mogućnosti i složenijih parametara. Veliki pomak u ovom vidu kontrole predstavljaju BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) programi koji pružaju informacije o odgajivačkoj vrednosti jedinki [14].

Kvalitativan pomak u genetskom monitoringu populacija nastupa osamdesetih i devedesetih godina prošlog veka kada je intenzivan razvoj metoda molekularne genetike omogućio da započnu i razviju se bazična proučavanja strukture genoma, a samim tim i izrada komparativnih mapa koja su od neprocenjive važnosti za proučavanja uporedne genomske organizacije sisara. Podaci o genomskoj mapi do sada su najbolje kompletirani kod svinja i goveda, obzirom da se radi o ekonomski najvažnijim vrstama. PiGMAP projekat se realizuju u okviru EC BRIDGE (8 zemalja evropske unije) i NAGRP (National Animal Genome Research Program) [8]. PiGMAP projekat je veoma interesantan za velike kompanije, koje investiranjem direktno podržavaju istraživanja. Naime, informacije koje pruža poziciono kloniranje, među kojima je i identifikacija mutacija značajnih gena, veoma su aplikativni u razvoju komercijalnih testova, i razradi protokola genske dijagnostike i terapije.

Do sada je već patentiran niz genetskih testova koji su našli direktnu primenu u različitim postupcima koji su od značaja u odgajivačkim programima. U svinjarstvu su definisani paneli informativnih markera koji se kao testovi najčešće koriste u genetskom monitoringu. To su testovi koji se odnose na kontrolu identiteta jedinke, kontrolu porekla i forenzičke potrebe, genetsku karakterizaciju rasa i linija, identifikaciju transgenih jedinki, prenatalno testiranje jedinki, identifikaciju jedinki koje su nosioci poželjnih ekonomsko važnih karakteristika kao i identifikaciju jedinki rezistentnih na obolenja različite etiologije.

Genetski monitoring kontrole identiteta jedinke / *Genetic monitoring*

Široka primena savremenih reproduktivnih tehnika u intenzivnom uzgoju dovela je do toga da se reproduktivni materijal (sperma i embrioni) u izvesnom smislu nalaze van kontrole odgajivača. Često je u praksi potrebno proveriti verodostojnost podataka. Najčešća aplikacija genetskih testova je u eliminaciji pogrešnih očeva. Ovi slučajevi zahtevaju komparaciju genetskih markera mogućih roditelja i njemu pripisanog potomka. U ovim slučajevima koriste se sistemi sa izraženim polimorfizmom, koji su izuzetno efikasni. U cilju kontrole identiteta jedinki i kontroli roditeljstva u praksi se najčešće ispituje 8 - 16 markera [2].

Genetski monitoring u karakterizaciji rasa / *Genetic monitoring of characterization of breed*

Ispitivanjem genetskog diverziteta u okviru vrste, na osnovu varijabilnosti i genomske distribucije izabrano je 27 mikrosatelita koji čine panel za karak-

terizaciju rasa. Rezultati ovih ispitivanja dalje otvaraju mogućnosti za identifikaciju linija. Kako transgene životinje postaju sve aktuelnije razvijaju se i testovi za determinaciju prisustva introdukovanog gena [9, 11].

Genetski monitoring ekonomski važnih svojstava / *Genetic monitoring of economically important characteristics*

Konkretno za stočarsku praksu od najvećeg značaja su rezultati projekata mapiranja genoma, koji pružaju mogućnost da se bolje razume genetska osnova proizvodnih svojstava, a naročito onih sa složenom genetskom uslovljenošću i onih sa niskim heritabilitetom. Drugim rečima, primenom različitih tehnika molekularne genetike traga se za regionima na genomu koji utiču na ispoljavanje ekonomski važnih svojstava (QTL lokusi) i identifikacijom genetskih markera (sekvence DNA baza koja označavaju specifična mesta) unutar ili u neposrednoj blizini lokusa.

Dosadašnji rezultati ovih proučavanja omogućili su identifikaciju nekih markera značajnih za poboljšanje proizvodne efikasnosti i kvaliteta proizvoda animalnog porekla. To su osobine koje se odnose na rast, karakteristike trupa, kvalitet mesa i reproduktivna svojstva. U genetskom monitoringu poligenih svojstava najviše se koriste markeri sa velikim efektom kao što je halotan lokus, RN lokus za kvalitet mesa i IGF-II lokus za kvantitativne i kvalitativne karakteristike trupa [15]. Na 15. hromozomu je identifikovan RN gen Rendmond Napoli (RNT, RN, Hampshire) gen koji ima veliki efekat na kvalitet mesa [7]. Prevalenca RN alela povećava se u komercijalnim populacijama, jer nosioci RN gena imaju bolje karakteristike trupa, zbog povećanog sadržaja intramuskularnog glikogena. Sem ovih lokusa na pojedinim hromozomima [4, 6, 7, 13, 14, 15], identifikovani su regioni koji imaju efekte na osobine rasta i kvalitete mesa i to:

- 4. hromozom – na osobine rasta i tovnosti, prosečnu debljinu leđne slanine, procent abdominalnog masnog tkiva kao i dužinu tankih creva [1],
- 6. hromozom – na telesnu masu na rođenju, telesnu masu pri odbijanju [4], sastav trupa, kvalitet mesa, tovnost, tip stresne reakcije,
- 7. hromozom – na sastav trupa i kvalitet mesa, prirast, nivo androsterona u mastima, i nivo kortizola u plazmi
- 13. hromozom – na telesnu masu pri rođenju i dnevni prirast [5]
- 14. hromozom – na debljinu leđne slanine.

Međutim, postignuti rezultati se smatraju još uvek nedovoljno aplikativnim za selekcijske programe. U tom smislu vodeći centri za animalnu gentiku zemalja Evropske Unije septembra 2001 godine dobili su finansijsku podršku za nov projekat: "New Gene Tools to Improve Pig Welfare and the Quality of Pork" ili kraće "Quality Pork Genes". Istraživanja će biti fokusirana na proučavanje genetske varijabilnosti proteina koji utiču na razlike u kvalitetu mesa. Analizom fenotipskih i genotipskih podataka kod 5 najznačajnijih rasa i primenom najsavremenijih tehnika za proučavanje genoma očekuje se identifikacija genetskih i biohemijskih

markera koji će se direktno koristiti u selekcijskim programima, koji imaju cilj poboljšanje osobina koje determinišu kvalitet svinjskog mesa [10].

Genetski monitoring naslednih oboljenja / *Genetic monitoring of inherited diseases*

Razvoj DNA testova za dijagnostiku genetskih poremećaja izuzetno je komplikovan proces. Proces identifikacije kandidat gena za neku bolest relativno je lakši ako se poremećaj javlja kod više vrsta. U tim slučajevima korišćenjem komparativnih genomskih mapa, gen se lakše identifikuje a DNA izoluje. Suština testova ove vrste je da se determinišu mutacije koje čine razliku između mutirane i normalne DNA. Zbog visoke podudarnosti izvesnih regiona humanog genoma i genoma svinja, svinja predstavlja najintenzivnije proučavan animalni model. Tako je do sad utvrđena homologija sa Ortostatskim tremorom, malignom hipertermijom, preteranom gojaznošću (Ob) i mnogim drugim poremećajima koji se odnose na metabolizam lipida i različitih kardiovaskularnih oboljenja [6].

Jedan od rezultata proučavanja genetskih poremećaja koji ima visoku homologiju sa genetskim defektom ljudi, je pojava naslednog tremora.. Naime, primenom pozicionog kloniranja identifikovan je gen koji je odgovoran za pojavu "Campus sindroma", CPS [13]. Campus sindrom je nasledni poremećaj koga karakteriše mišićna slabost i progresivni visoko frekventni tremor ekstremiteta (prvo prednjih, a zatim zadnjih). Prvi put je klinički dijagnostikovao u populaciji nemačkog Pietrena kod nerasta Campusa, po kome je sindrom i nazvan. Prasad su po rođenju zdrava, a prvi klinički znaci pojavljuju se u uzrastu od 2 do 9 nedelja starosti, a najčešće oko 27 dana. Genetske analize su pokazale da se radi o autozonom, dominantnom načinu nasleđivanja. Poseban značaj genetski testovi imaju u ovakvim slučajevima kada je priplodnjak nosilac germilne mutacije a sam ne pokazuje nikakve kliničke znake i rutinski se koristi u priplodu.

Sem direktne DNA dijagnostike mutiranih gena uzročnika bolesti, genetski monitoring bolesti podrazumeva i kontrolu genetske rezistencije prema bakterijskim, virusnim, gljivičnim i parazitskim prouzročivačima bolesti. Genetska rezistencije se većinom proučava u sklopu Kompeksa glavne tkivne histokompatibilnosti. Kod svinja ova ispitivanja su najviše usmerena na otpornost prema bakterijskim i virusnim uzročnicima. U tom smislu kod svinja su već definisane linije rezistentne na pojedine infektivne agense.

Neonatalna diareja prasadi prouzrokovana bakterijom Ešerihijom koli, predstavlja ozbiljan problem u odgoju prasadi. Činjenica da neka prasada ostaju zdrava ukazala je da se radi o genetskoj rezistenciji [5]. Dalja ispitivanja su pokazala da osetljive jedinke imaju receptore u resicama tankih creva, koji omogućavaju adheziju i kolonizaciju F 18 soja E. coli. Osetljivost i rezistentnost prema sposobnosti intestinalnog receptora za adheziju sojeva E. coli je genetski determinisana. Razvijen je komercijalni DR2 gen marker test koji omogućava rutinsku identifikaciju genetskih rezistentnih jedinki i DR1 marker test za identifikaciju oset-

ljivih na F 18 E. coli infekciju [12]. Korišćenjem ovih testova značajno se povećava genetska rezistentnost u populacijama.

Zaključna razmatranja / Concluding observations

Informacije o organizaciji genoma bitno su uticale na dizajniranje selekcijskih programa u svinjarstvu. Činjenica da je kroz program mapiranja genoma identifikovani značajni regioni, pružila je mogućnost da se razviju DNA testovi za identifikaciju gena i na osnovu njih definišu linije sa specifičnim karakteristikama.

Iako sve ovo pruža velike mogućnosti za dobijanje jedinki "superiornih" karakteristika, treba imati u vidu da kvalitetan selekcijski program ne sme da favorizuje pojedinačne poželjne karakteristike već da ih koristi kao važne komponente selekcijskih kriterijuma.

Literatura / References

1. Anderson L. et al.: Science, 263, 177101774, 1994. - 2. Barnet N.: Animal Breeding Use of New Technologies, textbook CRC Twynam 132-140, 1999. - 3. Buys N.: 5th Seminario Internatioanal de Suinocultura, 2000. - 4. Clamp P. A., Beever J.: J. Animal Sci. 70, 2695-2706, 1992. - 5. Edfords I.: Animal Genetics 26, 237-242, 1995. - 6. Lippmabn H.: Medical Laborator Observer 8, 2000. - 7. Milan D., Wolosyn N.: Mamm. Genome 7, 47-51, 1996. - 8. PiGMaP 1996-2004 NAGRP. - 9. Piedrahita J.: Biol. Reprod. 58, 1321-1329, 2000. - 10. Plastow I.: Applied genetics 9, 2001. - 11. Bach f.: Harvard reprot 3, 2000, 1998. - 12. Sullivan D., PICmarq Technology 2002. - 13. Tammen I., Schulze C.: Journal of Heredity 90, 472-476, 1999. - 14. Wan der Werf: Animal Breeding, Use of New Technologies, textbook CRC Twynam 74-98, 1999. - 15. Wan der Werf: Animal Breeding, Use of New Technologies, textbook CRC Twynam 120-130, 1999.

ENGLISH

GENETIC MONITORING IN CONTEMPORARY SWINE PRODUCTION

Mila Savić, S. Jovanović, Ružica Trailović, V. Dimitrijević

The development of molecular techniques for genome studies has led to qualitative progress in the selection of domestic animals by enabling the use of genetic markers, in addition to phenotypic selection parameters in choosing an animal.

Genetic monitoring has a wide application in contemporary swine production. Namely, genetic control is in the basis of all procedures pertaining to the selection of parent couples. Genetic monitoring is thus used in the genetic characterization of breeds, lines (evaluation of genetic drift and calculation of genetic distance), identification of transgenic animals (gene introduction), identification and control of origin of an animal. An especially important quality of genetic monitoring is the possibility to use genetic markers in the prenatal test of an animal.

The project to map swine genomes has already resulted in the identification of several genes which are significant for resistance to causes of certain diseases (F 18+ E. coli resistant), stress, as well as genes significant for economically important characteristics (RN), which are used as commercial tests in genetic monitoring of swine.

Key words: genetics, monitoring, swine

РУССКИЙ

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ В СОВРЕМЕННОМ СВИНОВОДСТВЕ

Мила Савич, С. Йованович, Ружица Траилович, В. Дмитриевич

Развитие молекулярных техник для изучения генома привело до качественного прогресса в селекции домашних животных, оделав возможным, что кроме фенотипических селекционных параметров в отборе отдельных животных, ползуются и генетические маркёры.

Генетический мониторинг имеет широкое применение в современном свиноводстве. А именно, в основе всех поступков, относимые на отбор родительских пар генетический контроль. Так генетический мониторинг ползуется в генетической характеристизации пород, линий (оценка генетического дрефта и высчитыванию генетической отдалённости), идентификации трансгенных животных (интродукция генов), идентификации и контроле происхождения отдельных животных. Особое качество генетического мониторинга возможность пользования генетических маркёров в дородовом тестировании отдельных животных.

Бывшие до сих пор результаты проекта картирования геномов свиней уже идентифицировали несколько генов значительных для сопротивления к возбудителям некоторых заболеваний (F 18 + E. coli сопротивляемый), стрессу, словно и гены значительные для экономически важные свойства (RN), которые как коммерческие тесты рутинно ползуются в генетическом мониторинге свиней.

Ключевые слова: генетика, мониторинг, свиньи