

**PRIMJENA MOLEKULARNE GENETIKE U UNAPRJEĐENJU
UZGOJNO-SELEKCIJSKIH SVOJSTAVA KOKOŠI****T. Balenović, Anamaria Ekert Kabalin, Mirta Balenović,
V. Sušić, I. Štoković, Ž. Pavičić****Sažetak**

Sve je veći razvoj i uporaba molekularne genetike u animalnoj proizvodnji i proizvodnji hrane. Genske karte domaćih životinja, a tako i kokoši, pružaju uvid u strukturu i funkciju gena i cjelokupnog genoma. Na taj način sve je veća njihova uporaba u selekcijskom radu putem odabira genetski poželjnih jedinki, unaprjeđenja bitnih proizvodnih svojstava te isključivanja jedinki koje su nosioci pojedinih genetskih nasljednih bolesti. Među najinteresantnija područja animalne molekularne genetike, a time i primjene molekularne genetike u peradarstvu, spada identifikacija pojedinih genetskih markera za ekonomski najvažnija proizvodna obilježja, fiziološki status, zdravlje životinja te eksterijerna svojstva. Uz prednosti mogućnosti odabira jedinki nositelja pojedinih poželjnih genetskih osobina za proizvodna svojstva, prednost primjene molekularne genetike je i u tome što se takve jedinke mogu utvrditi i odabrati u najranijoj dobi prije nego što se ta ekonomski bitna svojstva u njih uopće iskažu. Osim toga, moguće je pravovremeno otkriti jedinke nositelje genetski predisponiranih nasljednih bolesti pomoću testova neposredne detekcije DNA pogrešaka u kodovima odgovarajućih gena. Takve se jedinke izlučuju iz daljnjeg uzgoja i rasploda, a time se smanjuje rasprostranjenost navedenih bolesti u populaciji.

Nakon objavljivanja prve verzije cjelokupnog kokošjeg genoma 2004. godine došlo je do ekspanzije istraživanja na tom području. Stoga je na području istraživanja genoma 2005. godina nazvana «godinom kokoši». Početkom 2007. godine baza podataka kokošjih kvantitativnih genskih biljega sadržavala je 657 QTL-a za 112 različitih svojstava, pri čemu je najveći broj biljega vezan uz proizvodne značajke kokoši.

Ključne riječi: genom kokoši, kvantitativni genski biljezi (QTL), proizvodna svojstva, selekcija

Rad je priopćen na VII. Simpoziju «Peradarski dani 2007.» s međunarodnim sudjelovanjem, Poreč, 07. – 10. svibnja 2007., Hrvatska.

T. Balenović, Anamaria Ekert Kabalin, V. Sušić, I. Štoković, Zavod za stočarstvo, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

Mirta Balenović, Centar za peradarstvo, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

Ž. Pavičić, Zavod za animalnu higijenu, okoliš i etologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

Uvod

Donedavno su se uzgojno-seleksijske metode u peradarstvu, kao uostalom i drugim granama stočarstva, temeljile uglavnom na principima kvantitativne (populacijske) genetike. Osnovica principa selekcije u kvantitativnoj genetici temeljila se na odabiru jedinki na osnovu njihove fenotipske varijance, odnosno vanjskog očitovanja određenog ekonomski važnog proizvodnog svojstva. Tijekom posljednja dva desetljeća došlo je do naglog razvoja i primjene molekularne genetike i u humanim istraživanjima i u svim granama stočarske proizvodnje. Sve detaljnije analize pojedinih vrsta domaćih životinja pružaju nam uvid u strukturu i funkciju pojedinih gena te nekodogenih regija koje također, kao markeri, imaju bitan značaj u genetskom unaprjeđivanju životinja. Uporabom tehnika molekularne genetike moguće je uočiti poželjne alelne varijante roditelja i potomaka, te potom, na temelju dobivenih rezultata direktno odabirati jedinke koje ćemo ostaviti za daljnji rasplod (Ivanković, 2005.; Fadiel i sur., 2005.; Hu i sur., 2007.).

Za takvu uspješnu selekciju od velike je važnosti pronalaženje i lociranje različitih genskih markera odgovornih za izraženost pojedinih ekonomski bitnih proizvodnih svojstava. Većina proizvodnih svojstava u kokoši, kao i u ostalih vrsta domaćih životinja, je poligeneske prirode, što znači da su vezani za djelovanje većeg broja gena koji mogu međusobno biti u različitim odnosima. Stoga je i udio nasljednosti za takva svojstva manji nego za ona koja su vezana za jedan ili manji broj gena (monogenska svojstva), kod kojih je i mutacija u izravnoj vezi s tim proizvodnim svojstvom. Na takva monogenska svojstva može se učinkovito djelovati tako da se određeni odgovarajući genski markeri (kao direktni biljezi) ugrade u uzgojne programe (engl. *Marker Assisted Selection*, MAS). Za obilježja poligeneske prirode uporaba u selekcijskim programima ide putem utvrđivanja indirektnih kvantitativnih genskih biljega (engl. *Quantitative Trait Loci*, QTL) (Ruy i sur., 2005.; Ivanković, 2005.; Abasht i sur., 2006.). Primjenom navedenih direktnih i indirektnih metoda postalo je moguće odabirati poželjne jedinke na osnovi pouzdane prognoze proizvodnih svojstava i prije nego što su one započele proizvodnju. To nam nadalje omogućuje da s većom vjerojatnošću u određenim situacijama procjenjujemo i proizvodne potencijale potomaka na osnovi profila genskih markera njihovih roditelja. Testiranjem roditelja na eventualno postojanje gena povezanih s određenim predispozicijama za oboljenja moguće je također takve jedinke na vrijeme isključiti iz uzgojno-seleksijskog rada.

Mogućnosti primjene molekularne genetike u unapređenju uzgojno-seleksijskih svojstava

Osnovica primjene molekularne genetike u unapređenju uzgojno-seleksijskih svojstava kokoši je što bolje poznavanje njihova genoma. Sama analiza strukture i funkcije gena omogućava bolje razumijevanje djelovanja, međusobnih interakcija i osnova nasljeđivanja kako ekonomski bitnih proizvodnih svojstava, tako i drugih obilježja (Abasht i sur., 2006.; Fadiel i sur., 2005.). Tako u razumijevanju genetskog profila kokoši prvi korak predstavlja mapiranje genoma i gena. Prva verzija genoma kokoši objavljena je u ožujku 2004., nakon čega je došlo do ekspanzije istraživanja na području kokošjeg genoma. Iz tog je razloga, gledajući s aspekta istraživanja genoma, 2005. godina nazvana «godinom kokoši» (Abasht i sur., 2006.).

Većina projekata kojima je cilj utvrđivanje ili upotpunjavanje genskih karti različitih vrta životinja, biljaka i ljudi dostupna je na Internetu. Neke od baza podataka koje obuhvaćaju genom kokoši su:

- ChickenQTLdb (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/>) NCBI chicken genome resources (<http://ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/chicken>)
- Chicken variation database (<http://chicken.genomics.org.cn/index.jsp>)
- Chicken genome browser (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?org=Chicken&db=0&hgsid=30948908>)
- Poultry and avian research resources (<http://animalscience.ucdavis.edu/AvianResources/index.htm>).

Genske karte predstavljaju temelj za razumijevanje genoma i primjenu zapaženih genskih markera za pojedina proizvodna svojstva u provedbi uzgojno-seleksijskog rada. Nakon upoznavanja osnovne strukture ciljanog gena, istražuju se regulatorni procesni signali i fiziološke funkcije genskog produkta. Ukoliko jasno definiramo nasljedna svojstva, poznavajući njihov izvorni materijal, moguće je kreirati osnovne gen lokuse u njihovom međusobnom odnosu te time pridonijeti razumijevanju nasljeđivanja određenih svojstava.

Uz navedeno, tehnike molekularne genetike koriste se i u tzv. genskoj dijagnostici (dijagnostici nasljednih bolesti). Te bolesti mogu biti uzrokovane pogreškama u broju i/ili građi kromosoma, mutacijama na više gena (poligenske bolesti) ili na samo jednom genu (monogenske bolesti). One najčešće nastaju uslijed zamjena redoslijeda nukleotidnih baza u kodirajućim regijama DNA. Korištenjem genske dijagnostike koja se zasniva na direktnom testiranju odgovorne kodirajuće regije DNA jedinice s poremećajem moguće je vrlo rano otkriti životinje nositelje tih poremećaja te ih izlučiti iz uzgoja. U

slučaju kada nije poznata sekvenca gena odgovorna za bolest ili poremećaj, nastoji se utvrditi genski marker koji je posredno vezan uz pojavu te nasljedne bolesti. Pri tome je poželjno da je marker lociran što bliže kodirajućoj regiji odgovornog gena kako bi se smanjila mogućnost pogreške testa uslijed rekombinacije (Ivanković, 2005.).

Indirektni kvantitativni genski biljezi (QTL) kod kokoši

Kao što je već navedeno, unaprjeđenje obilježja poligenske prirode u seleksijskim programima ide putem utvrđivanja indirektnih kvantitativnih genskih biljeza (engl. *Quantitative Trait Loci*, QTL). Njihovom detekcijom unutar genoma postalo je moguće odabirati poželjne jedinke na osnovi pouzdane prognoze proizvodnih svojstava i prije nego što su one započele proizvodnju. To nam nadalje omogućuje da s većom vjerojatnošću u određenim situacijama procijenimo i proizvodne potencijale potomaka na osnovi profila genetskih markera njihovih roditelja (Ruy i sur., 2005., Ivanković, 2005.; Abasht i sur., 2006.; Hu i sur., 2007.).

Baza podataka kokošnjih QTL-a (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/>) sakupila je sve podatke objavljene tijekom posljednjih desetaka godina. Na taj način omogućuje usporedbu i lociranje gena na kromosomima kokoši, kao i QTL-a važnih u proizvodnji. Početkom 2007. godine baza podataka sadržavala je 657 QTL-a za 112 različitih uzgojnih svojstava (obilježja). U toj se bazi podacima može pristupiti pregledom cijele mape genoma i individualnih mapa kromosoma, pretragom po pojedinim uzgojnim svojstvima (razredima, tipovima i pojedinačnim svojstvima – obilježjima), nazivima pojedinih kvantitativnih genskih biljeza, ključnim riječima ili godini publikacije pojedinih dostignuća.

Na slici 1 prikazan je broj utvrđenih kvantitativnih genskih biljeza prema pojedinim kromosomima kokoši.

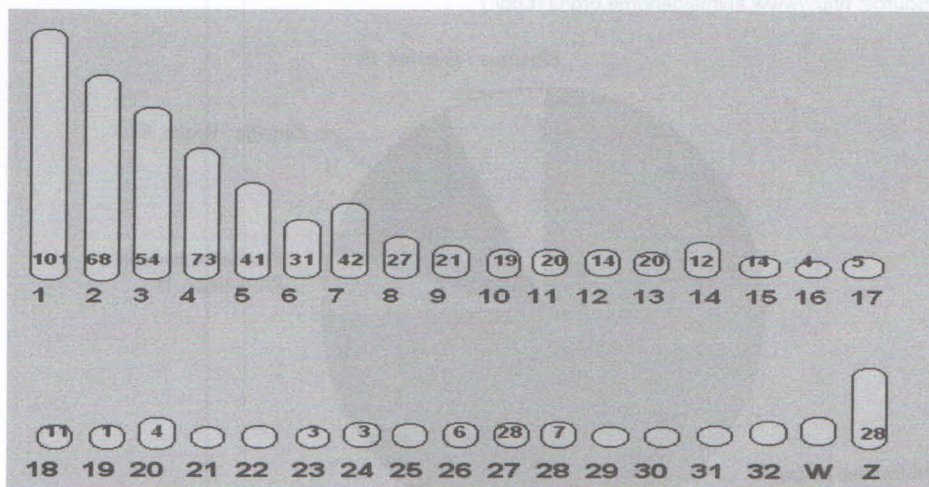
Četiri su osnovna razreda svojstava unutar kojih se klasificiraju utvrđeni kvantitativni genski biljezi kokoši (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/>):

1. eksterijer (i ponašanje): društvenost, strašljivost, frekvencija glasanja, defekacije i dr.
2. fiziološke značajke: prvenstveno se odnose na metaboličke poremetnje
3. zdravlje: otpornost na bolesti i druge značajke (poput ukupnog mortaliteta)
4. proizvodne značajke: kvaliteta mesa, karakteristike rasta, hranidbene karakteristike, proizvodnja jaja i kvaliteta jaja te druge značajke.

Broj utvrđenih kvantitativnih genskih biljeza prema razredu svojstava, kao i prema njihovom tipu prikazani su u tablicama 1 i 2 i na grafovima 1 i 2.

Slika 1. - BROJ UTVRĐENIH QLT-A NA POJEDINIM KROMOSOMIMA KOKOŠI (PODACI OD SIJEČNJA 2007.)

Figure 1 – NUMBER OF QTL ON CHICHEN CHROMOSOMES (DATA FROM JANUARY 2007)



Tablica 1. - BROJ UTVRĐENIH QTL-A (KVANTITATIVNIH GENSKIH BILJEGA) PREMA RAZREDU

Table 1. - NUMBER OF QTL (QUANTITATIVE TRAIT LOCI) BY TRAIT CLASSES

Razred / Trait class	Broj QTL-a / Number of QTL
Eksterijer / Exterior	49
Zdravlje / Health	88
Fiziološke značajke / Physiology	31
Proizvodne značajke / Production	489

(Izvor / Source: <http://www.animalgenome.org/QTLdb/>)

Tablica 2. - BROJ UTVRĐENIH QTL-A PREMA TIPU

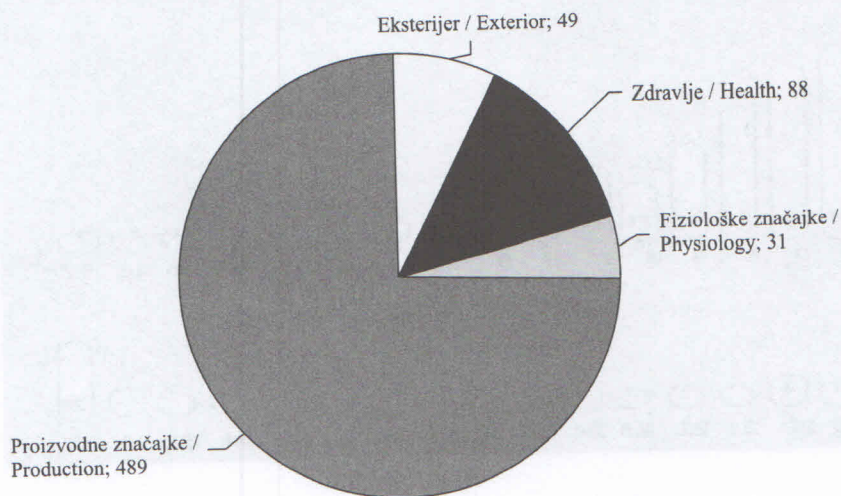
Table 2. - NUMBER OF QTL BY TRAIT TYPES

Tip / Trait Types	Broj QTL-a / Number of QTL
Ponašanje / Behavior	45
Otpornost na bolesti / Disease Resistance	87
Proizvodnja jaja / Egg Production	25
Kvaliteta jaja / Egg Quality	101
Hranidbene odlike / Feeding	8
Rast / Growth	345
Kvaliteta mesa / Meat Quality	9
Metaboličke poremetnje / Metabolic Disorder	31
Ostalo / Other	6

(Izvor / Source: <http://www.animalgenome.org/QTLdb/>)

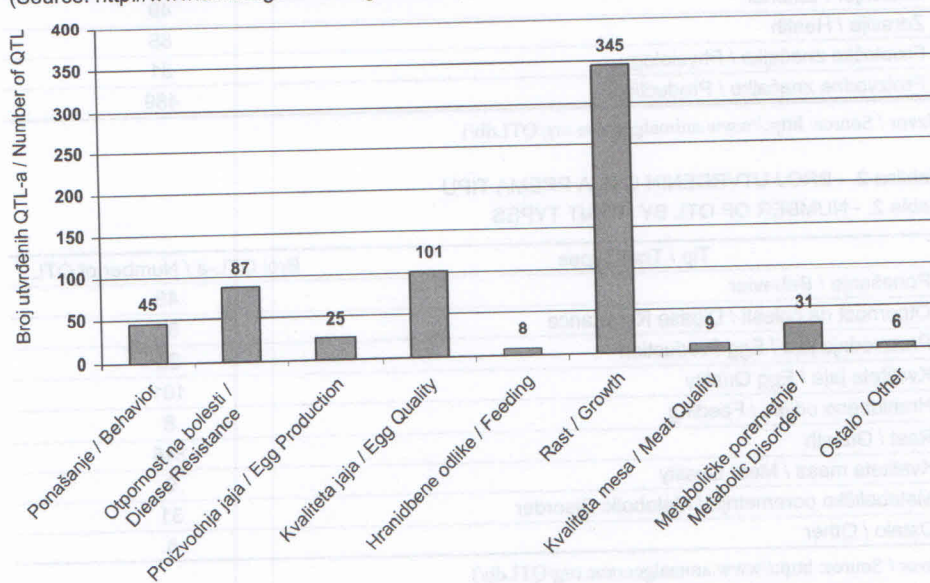
Grafikon 1: - BROJ UTVRĐENIH QTL-A (KVANTITATIVNIH GENSKIH BILJEGA) PREMA RAZREDU (Izvor: <http://www.animalgenome.org/QTLdb/>)

Graph 1: - NUMBER OF QTL (QUANTITATIVE TRAIT LOCI) BY TRAIT CLASSES (Source: <http://www.animalgenome.org/QTLdb/>)



Grafikon 2. - BROJ UTVRĐENIH QTL-A PREMA TIPU (Izvor: <http://www.animalgenome.org/QTLdb/>)

Graph 2. - NUMBER OF QTL BY TRAIT TYPES (Source: <http://www.animalgenome.org/QTLdb/>)



U tablici 3 nabrojeno je dvadeset svojstava s najvećim brojem utvrđenih kvantitativnih genskih biljega.

Tablica 3: - DVADESET SVOJTAVA S NAJVEĆIM BROJEM UTVRĐENIH QTL-A

Table 3: - TOP 20 TRAITS IN TERMS OF NUMBER OF QTLS REPORTED

Svojstvo / Traits	Broj QTL-a / Number of QTL
Tjelesna masa / Body weight	166
Masa abdominalne masti / Abdominal fat weight	47
Masa prsnog mišićja / Breast muscle weight	25
Masa jetre / Liver weight	16
Odgovor protutijela na patogen SRBC / Antibody response to pathogen SRBC	16
Masa batka / Drumstick weight	16
Masa slezene / Spleen weight	14
Masa jaja / Egg weight	12
Kanibalizam kljucanja perja / Feather pecking	10
Strah / Fear	9
Kanibalizam primanja kljucanja perja / Receiving feather pecking	9
Masa srca / Heart weight	9
Biljezi vezani uz Marekovu bolest / Marek's disease related traits	9
Odgovor protutijela na patogen LPS / Antibody response to pathogen LPS	8
Masa trupa / Carcass weight	8
Odgovor protutijela na patogen LTA / Antibody response to pathogen LTA	8
Odgovor protutijela na patogen KLH / Antibody response to pathogen KLH	8
Područje tibije / Tibia area	8
Masa tibije / Tibia width	7
Masa krila / Wing weight	7

(Izvor / Source: <http://www.animalgenome.org/QTLdb/>)

Uporaba identificiranih kvantitativnih genskih biljega (QTL) u uzgojnim programima

Kako raste količina eksperimentalnih rezultata utvrđivanja kvantitativnih genskih biljega, sve je veća i tendencija uzgojnih organizacija da dobivene rezultate implementiraju u sheme uzgojnih programa. No ti rezultati istraživanja ne mogu se odmah implementirati u uzgojne programe putem selekcije potpomognute genskim markerima jer nije potpuno sigurno da li se utvrđeni biljezi zaista segregiraju u populaciji. Stoga je dobivene rezultate

potrebno provjeriti kako bi se mogli koristiti za unaprjeđenje pojedinih svojstava unutar uzgojnih programa. Jedan od načina je provođenje potvrdnog ispitivanja njihova nasljeđivanja. Kada se s dovoljnom pouzdanošću utvrdi da su genski biljezi za neko svojstvo stvarno prisutni i nasljeđivi, prelazi se na uporabu QTL-a putem selekcije potpomognute genskim markerima. Implementacija identificiranih biljega zahtijeva identifikaciju životinja nositelja poželjnih biljega unutar uzgojne populacije kako bi se mogle brzo uključiti u uzgojne programe.

Zaključak

Metode za mapiranje kvantitativnih genskih biljega (QTL-a) u kokoši upotrebljavaju se kako bi se identificirale regije kromosoma koje pridonose varijabilnosti svojstava povezanih s rastom, bolestima, otpornošću, proizvodnim osobinama, ponašanjem i metaboličkim pokazateljima. Uz veliku važnost kokoši kao vrste koja je izrazito zastupljena u prehrani ljudi, ona može poslužiti i kao model za izučavanje bolesti (istraživanje virusa aviarnog leukoza što vodi razvoju područja onkogeneze) te razvojne biologije s obzirom na to da se kokoši na evolucijskom stablu nalaze između sisavaca i riba. S evolucijskog stajališta istraživanje genoma kokoši pruža informacije bitne za razumijevanje evolucije genoma kralježaka).

REFERENCE

1. Abasht, B., J. C. M. Dekkers, S. J. Lamont (2006.): Review of Quantitative Trait Loci Identified in the Chicken. *Poultry Science* 85, 2079-2096.
2. Fadiel A., Anidi, I., Eichenbaum K. D. (2005.): Farm animal genomics and informatics: an update. *Nucleic Acid Research*, vol. 33, no. 19, 6308-6318.
3. Hu Z.-L., Fritz E. R., Reecy, J. M. (2007.): AnimaQTLdb: a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research*, 35, Database issue, D604-D609.
4. Ivanković, A. (2005.): Uporaba molekularne genetike u animalnoj proizvodnji. *Stočarstvo* 59 (2), 121-144.
5. Ruy D. C., Nones, K., Alias Baron, E., Correa Ledur, M., Manoel, C., de Melo, R., Ambo, M., de Lello Rocha Campos, R., Lehmann Coutinho, L. (2005): Strategic marker selection to detect quantitative trait loci in chicken. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 62, 2, 111-116.
6. Spelman R. J., Bovenhuis, H. (1998.): Moving from QTL experimental results to the utilization of QTL in breeding programmes. *Animal Genetics* 29, 77-84.
7. <http://animalscience.ucdavis.edu/AvianResources/index.htm>
8. <http://chicken.genomics.org.cn/index.jsp>

9. <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?org=Chicken&db=0&hgsid=30948908>
10. <http://www.animalgenome.org/QTLdb/>
11. <http://ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/chicken>

APPLICATION OF MOLECULAR GENETICS TO IMPROVE BREEDING AND SELECTION FEATURES IN CHICKEN

Summary

There is intensive development and application of molecular genetics in animal production and food manufacturing. Genetic maps of domestic animals, as well as chicken genetic maps give the insight into genes and genome structure and function. In this way, their usage in selection work increased through selection of genetically desirable animals, likewise promotion of significant production features and elimination of hereditary diseases. Identification of particular genetic markers for economically most important production features, as well as physiological state, health and exterior features represent the most interesting parts of molecular genetics. These methods make it possible to choose suitable breeding individuals for certain production features in the early age, even before these economically significant production features have become apparent yet. It is also possible to detect and extract heterozygotes possessing hereditary errors. With tests for direct DNA detection of gene code errors concerning specific hereditary diseases these individuals could be prevented from further breeding and reproduction. By this means we can reduce particular diseases occurrence in population.

The release of the first draft of the chicken genome in 2004 generated the current boom in chicken genomic research. From the standpoint of genomic researches, 2005 was called "Year Of The Chicken Genome". At the beginning of 2007, chicken database contained 657 QTL (quantitative trait loci) for 112 different traits, most of them are QTL for production features.

Key words: chicken genome, quantitative trait loci, production features, selection

Primljeno: 20.5.2007.