

Čo nám hovorí genóm pinzgauského dobytká („keby genóm vedel rozprávať“)

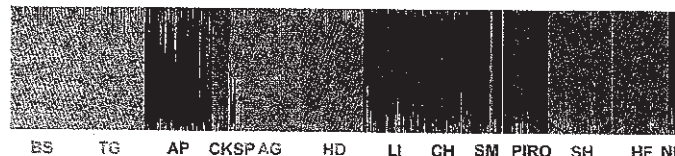
V nadväznosti na náš posledný príspevok v tomto časopise chceme prezentovať pokrok vo výskume poznatkov získaných riešením projektu APVV-0054-14 na tému „Molekulárno genetická diverzita a produkčný potenciál živočíšnych potravinových zdrojov na Slovensku“. Rok 2017 sme na katedre genetiky a plemenárskej biológie, Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre začali pomerne úspešne, vydaním monografie „Genomic characterisation of Slovak Pinzgau cattle“.

Publikovaná štúdia je prvou detailnou analýzou genetickej diverzity pinzgauského dobytká, ktorá prezentuje naše zistenia a poukazuje na možnosti ich využitia pre zachovanie plemena v jeho pôvodnom fenotype. Zároveň sme úspešne vyvinuli a aplikovali metodiku na rozlíšenie fenotypovo podobných populácií.

Premiešanie plemien

Pinzgauský dobytok sa vyznačuje mnohými vynikajúcimi vlastnosťami, čo bolo dôvodom jeho rozšírenia z Rakúska po celom svete. Napriek tomu, že v súčasnosti patrí k ohrozeným populáciám v rámci Európy, majú mnohí poľnohospodári záujem o jeho udržanie. Chovný cieľ je stanovený primárne pre čistokrvnú populáciu pinzgauského dobytká. Výskyt autochtónnych jedincov sa stáva zriedkavým a preto je potrebné implementovať

národnú stratégiu ochrany. Medzi rýchlosťou charakteristiky genotypických zdrojov a ich stratou existuje úzky vzťah. Rozvoj genomických nástrojov umožňuje optimalizovať šľachtiteľské stratégie s cieľom zlepšiť úžitkovosť pri súčasnom zachovaní genetickej diverzity. Väčšina voľne žijúcich príbuzných hovädzieho dobytká (HD) patrí k ohrozeným druhom, pričom neboli vykonané žiadne kroky na ich záchranu ani napriek tomu, že majú potenciál reprezentovať cenné genetické zdroje pre oblasť poľnohospodárstva. Keďže je v našom záujme udržať pinzgauský dobytok v jeho originálnom fenotype, teda kombinovanom úžitkovom type, je vhodné poznať mieru primiešania iných plemien. Prístup používaný na hodnotenie štruktúry populácie je charakterizovaný ako metóda so špecifickým algoritmom výpočtu, buď s použitím alebo bez použitia



Obrázok č.1: Grafické znázornenie premiešania a vzťahov medzi 15 európskymi plemenami dobytká. brown swiss (BS), tyrol grey (TG), rakúsky pinzgauský (AP), cika (CK), slovenský pinzgauský (SP), angus (AG), hereford (HD), limousine (LI), charolais (CH), mäsový simentál (SM), piemontese (PI), romagnola (RO), shorthorn (SH), holštajnský (HF), norwegian red (NR).

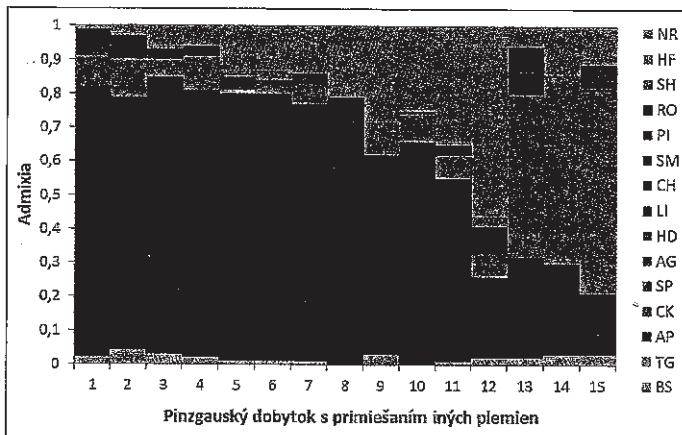
vstupných informácií o subpopuláciách. Boli sme schopní oddeliť aj úzko príbuzné plemená (napr. slovenskú a rakúsku pinzgauskú populáciu), pri zohľadnení: premiešania s inými plemenami, ktoré sa podieľali na historickom vývoji, inbrídingu, selekcie a migrácie. Obrázok 1 znázorňuje typický príklad premiešania metapopulácie 15 európskych plemien.

Ak si priblížime len pinzgauskú populáciu, na obrázku 2 sme pre názornosť vybrali 12 štatisticky významných jedincov rakúskeho a 3 zvieratá slovenského pinzgauského dobytká. Vidíme, že v genofonde každého jedného nájdeme aj vyšší alebo nižší podiel holštajnskeho plemena (HF). Je to výsledok zošľachtovania v smere zvýšenia produkcie mlieka v oboch populáciách v minulosti a smerovania selekcie.

Signály selekcie

Od čias domestikácie HD došlo k podstatnému genetickému zlepšeniu mnohých znakov komerčného významu vrátane adaptácie, exteriéru a produkcie. Odpoveďou na takéto selekčný tlak sú zmeny na úrovni genómu v oblastiach, zodpovedných za prejav jednotlivých znakov, ktoré nazývame stopy (signály) selekcie („selection signatures“). Domestikácia a selekcia sú procesy, ktoré menia parametre genetickej variability v rámci aj medzi populáciami. Možný prístup na zistenie stôp selekcie je porovnanie plemien, ktoré majú odlišné chovné ciele (napr. mliekový a mäsový úžitkový typ). Obdobné genetické variácie možno zistiť aj pri plemenách s podobným úžitkovým zameraním (a teda podobnými fenotyp-

mi), tieto môžu súvisieť s históriou selekcie. Vzhľadom k tomu, že technológia sa zlepšuje a náklady na genotypovanie klesajú, šľachtiteľské stratégie s využitím genomických informácií môžu pomôcť chovateľom v riadení stád na úrovni genómu. Tradičnou metódou na určenie stupňa diferenciácie v rámci dvoch populácií je Wrightova F_{ST} štatistika. Jej použitie je vhodné najmä vtedy, keď sú pozorované veľké rozdiely vo frekvenciách alel, napr. medzi rôznymi plemenami dobytká. V rámci plemena sledujeme len malé rozdiely vo frekvenciách alel a je potrebné použiť inú metódu na určenie odlišných oblastí. Jednou z takýchto alternatívnych metód je výpočet frekvencie homozygotných úsekov (ROH). Unikátnosť pinzgauského dobytká (SP a AP) bola dokázaná charakteristikou homozygotných úsekov genómu, resp. autozygotných oblastí v rámci pinzgauského plemena (obrázok 3 A). ROH teda predstavuje homozygotné úseky, na základe ktorých vieme určiť spoločné oblasti genómu pre obe populácie, naopak s použitím F_{ST} sme našli rozdielne oblasti. Existujú značné rozdiely v dobre definovaných regiónoch, na základe ktorých vieme rozlíšiť AP a SP, napriek ich spoločnému pôvodu (obrázok 3 B). Vo všeobecnosti je šľachtiteľský program AP viac zameraný na produkciu mäsa ako SP, čo bolo zreteľne vidieť z autozygotných úsekov. Autozygotné úseky nám vravia o spoločných regiónoch získaných selekciou, zatiaľ čo F_{ST} vyzdvihuje odlišnosť medzi plemenami. Stopy (signály) selekcie sú regióny v genóme, pri ktorých pozorujeme zvýšenú frekvenciu a sú v populá-



Obrázok č.2: Segmentovaný stĺpcový graf znázorňujúci genomický podiel najmä holštajnskeho plemena (HF) na utváraní pinzgauského dobytká (AP - rakúskeho - od 1 do 12, SP - slovenského - posledné 13 - 15).

cií fixované vďaka ich funkčnému významu v konkrétnych procesoch. Tieto oblasti môžeme rozpoznať kvôli ich nízkej genetickej variabilite a špecifickým prejavom väzbovej nerovnováhy. Metóda na zistenie variancie väzbovej nerovnováhy medzi plemenami bola úspešne použitá pri detekcii génov, spojených s civilizačnými ochoreniami ľudí, ako aj produkčnými a reprodukčnými znakmi HD. Hľadali sme rozdiely medzi populáciami v lokálnych znakovoch asociovaných s produkčnými a reprodukčnými vlastnosťami. Očakávali sme väčšie rozdiely v tých oblastiach genómu, kde je väzbová nerovnováha viditeľne odlišná v rámci populácií. Regióny asociované s ekonomicky významnými a biologicky dôležitými vlastnosťami obsahujú kandidátne gény veľkého účinku pre mäsovú produkciu, množstvo a zloženie mlieka (GHR), utváranie vemena a reprodukciu (PRLR), konverziu krmiva (PRKAA1, MOCOS), plodnosť (PLAG1) a imunitnú reakciu (COQ3, PTGER4). Najviac rovnakých signálov bolo pozorovaných medzi slovenským pinzgauským a simentálskym dobytkom, napriek tomu, že slovenský a rakúsky pinzgauský dobytok majú úzko prepojený spoločný pôvod. Môže to byť spôsobené odlišnosťami v intenzite selekcie rôznych skupín vlastností, a teda rozdielov v chovnom ciele.

V ľudskej populácii je jedným z mnohých génov, ktoré sú popisované v súvislosti so vznikom a rozvojom obezity grelín. K tvorbe grelínu a jeho vylučovaniu do organizmu dochádza v stenách žalúdka a črevách. Celý tento proces prebieha v neustálych cykloch, v priebehu dňa aj noci. Hladina grelínu je najvyššia pred jedlom a po jedle opäť klesá. Ak mávajú ľudia často tzv. „vlčí hlad“ znamená to, že v krvi koluje viac grelínu ako človek potrebuje. Stimuluje u človeka sekréciu rastového hormónu, je asociovaný so zvýšením chuti do jedla a zvýšením príjmu potravy. Koncentrácia grelínu negatívne koreluje s BMI, obvodom pásu a percentom telesného tuku. Grelnín sa podieľa na regulácii príjmu potravy, telesnej hmotnosti a energetického výdaja. Podobne pri HD má tento gén široký rozsah pôsobnosti. Keďže reguluje energetický metabolizmus ovplyvňuje príjem krmiva, jeho konverziu, celkovú hmotnosť, ako aj následnú premenu na produkciu mlieka, jeho

množstvo a zloženie.

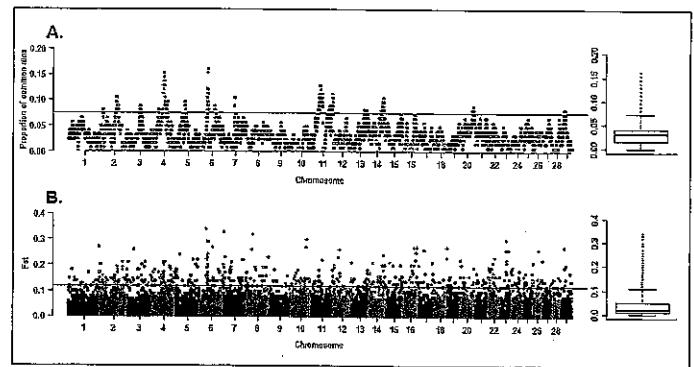
U ľudí je prolaktínový receptor (PRLR) široko exprimovaný v prsníkoch, placente, obličkách, pečeni a podžalúdkovej žľaze a aktivovaný rastovým hormónom a ľudským placentovým laktogénom okrem prolaktínu. Mutácie PRLR sú úzko spojené s patológiou, progresiou a prognózou rakoviny, vrátane rakoviny prsníka. Pri dobytku má PRLR vplyv na vývoj a rast plodu, graviditu, laktáciu a adaptáciu na stres. Oba receptory majú hlavnú úlohu v regulácii rastového hormónu a prolaktínu na funkciu mliečnej žľazy.

Pri pohľade na obrázok 4 A vidno štatisticky významné rozdiely väzbovej nerovnováhy pri porovnávaní dvojíc plemien HD. Na obrázku 4 B je znázornená oblasť genómu, v ktorom je lokalizovaný gén kódujúci receptor pre rastový hormón - grelín (GHR), pri dobytku spojený s produkciou mäsa aj mlieka. Podľa očakávaní bol najzreteľnejší signál oblasti grelínu práve pre párové porovnanie s holštajnským (pinzgauský-holštajnský, holštajnský-charolais). V jeho blízkosti bol významne preukázaný signál génu pre prolaktínový receptor (PRLR) ovplyvňujúci produkciu mlieka a reprodukciu pri párovom porovnaní slovenského a rakúskeho pinzgauského dobytko (Obrázok 4 B).

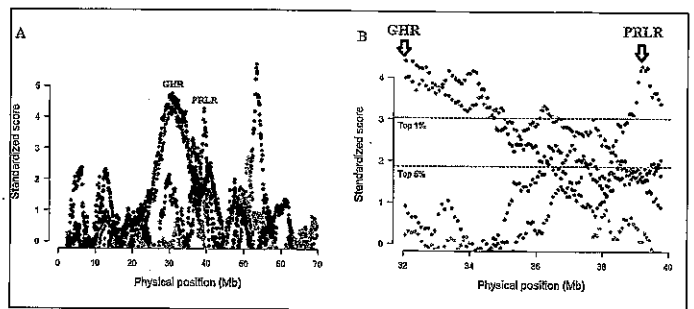
Prečo ÁNO?

Na základe rôznych markérov je možné odlišiť aj blízko príbuzné populácie, stačí len vybrať vhodný typ analýzy. Genetickej diverzity uložená v genomických dátach predstavuje užitočnú informáciu pre identifikáciu pôvodu jedincov. Dokonca sme schopní rozoznať jemné genetické rozdiely medzi slovenským a rakúskym pinzgauským dobytkom. Jedinečnosť oboch plemien vyzdvihuje potrebu ochrany genofondu z globálneho hľadiska.

Zvolená metodika na odlíšenie genealogicky príbuzných populácií s použitím molekulárnych dát vysokej hustoty pri pinzgauskom dobytku môže slúžiť ako všeobecný vzor pre analýzu rozdielov rôznych plemien či druhov. Použitie najnovších výsledkov kvantitatívnej, ako aj molekulárnej genetiky by malo pomôcť trvalo udržateľnému riadeniu šľachtiteľských programov malých ohrozených populácií za predpokladu rutinného zberu genomických informácií. Poznat-



Obrázok č. 3: Výskyt spoločných úsekov pre každý SNP v rakúskej a slovenskej populácii (A) a distribúcia *FST* hodnôt v genóme (B) ako signál nedávnej selekcie odrážajúca šľachtiteľský program slovenskej aj rakúskej populácie pinzgauského dobytko.



Obrázok č. 4 (A): Štandardizované skóre variancie väzbovej nerovnováhy chromozómu 20. (B) gén grelín (GHR-20: 31.89-32.06 Mb) a prolaktínový receptor (PRLR-20: 38.95-39.15 Mb) v top 5 a 1% distribúcií genómu pre párové porovania populácií: slovenský a rakúsky pinzgauský (červenou), slovenský pinzgauský a charolais (oranžovou), slovenský pinzgauský a holštajnský (zelenou), slovenský pinzgauský a mäsový simentál (modrou), holštajnský a charolais (purpurovou).

ky o signáloch selekcie, vzťahy s ostatnými európskymi populáciami HD, vrátane rakúskeho pinzgauského dobytko a identifikácia charakteristických oblastí genómu prispievajú k rozvoju stratégií, s cieľom zachovať pinzgauský dobytok v pôvodnom type.

Zmena chovného cieľa pre zachovanie kombinovaného úžitkového typu pinzgauského dobytko je dlhodobou navrhovaná s predpokladom pozitívneho vplyvu na genetickú štruktúru. Vzhľadom na genetické založenie slovenskej populácie je genetický potenciál plemena využitý nedostatočne, globálne populácie s podobnou mierou diverzity ju dokážu využiť efektívnejšie a vykazujú vyšší genetický pokrok. Ak chceme uchaovať genetickú diverzitu v rámci populácie, je pre nás dôležité, aby geneticky podobné plemenné zvieratá a teda príbuzné boli využívané v pripárovacích plánoch takým spôsobom, aby sa nekumulovala inbrédning vzhľadom na budúce generácie. Vysoko inbrédny býk prenáša homozygotné úseky na potomstvo a jeho časté využí-

vanie v populácii ovplyvňuje genetickú diverzitu neželaným smerom. Znížená diverzita na strane plemenníkov môže byť výsledkom obľuby niektorých línií medzi našimi farmármi, avšak z dlhodobého hľadiska práve plemenníky menej frekventovaných línií môžu prispieť k vyššej konkurencieschopnosti. Preto bude našou ďalšou snahou nájsť vhodné plemenníky a plemennice do pripárovacích plánov. Zároveň je potrebné identifikovať najcennejšie línie, rodiny a jednotlivcov vplyvajúcich na rozmanitosť populácie s cieľom dosiahnuť genetický pokrok a produkciu potomstva s vyššou pridanou hodnotou. Naše bádanie bude pokračovať nameraným smerom, využijú získané poznatky pre zámerný pripúšťací program s ohľadom na udržanie diverzity a genetický zisk.

Ing. Veronika Kukučková, PhD.,
 doc. Ing. Radovan Kasarda, PhD.
 Prof. Ing. Ondrej Kadlecík, CSc.,
 Ing. Nina Moravčíková, PhD.,
 prof. Ing. Anna Trakovická, CSc.
 Slovenská poľnohospodárska
 univerzita v Nitre