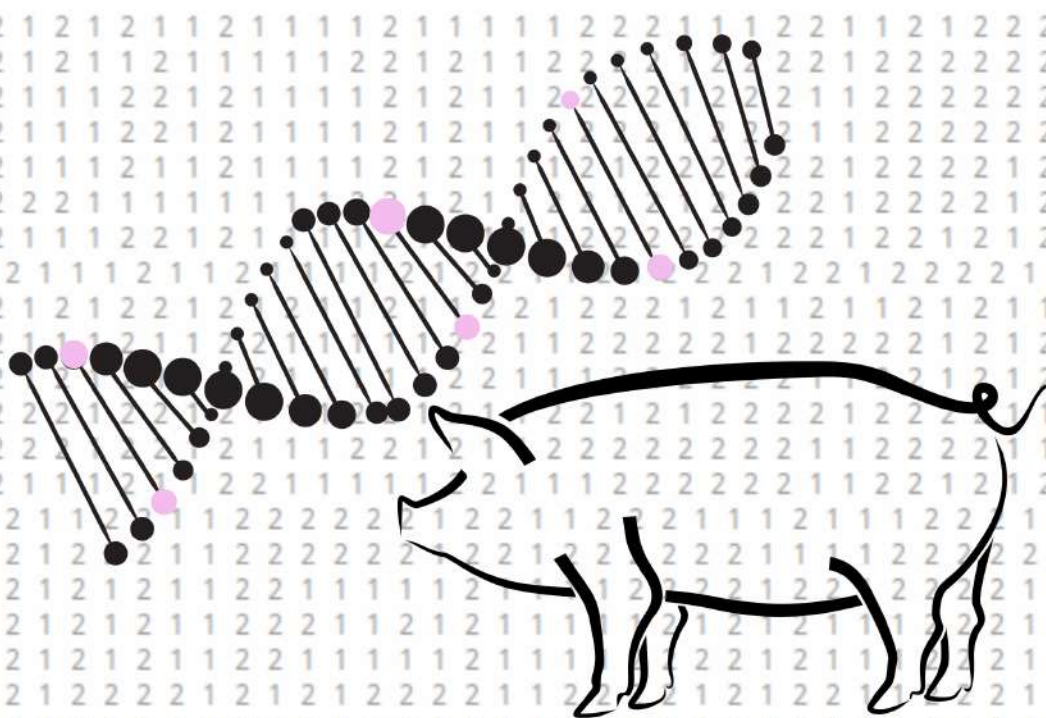


**BF****UNIVERZA V LJUBLJANI**
Biotehniška fakulteta

Milena Kovač, Anita Ule, Karmen Ložar, Irena Ule,
Stanka Pavlin, Andrej Kastelic, Špela Malovrh

UPORABA GENOMSKIH INFORMACIJ PRI SELEKCIJI PRAŠIČEV



PROGRAM
RAZVOJA
PODEŽELJA

Evropski kmetijski sklad za razvoj podeželja: Evropa investira v podeželje



Ljubljana, 2024

Uporaba genomskih informacij pri selekciji prašičev

Milena Kovač, Anita Ule, Karmen Ložar,
Irena Ule, Stanka Pavlin, Andrej Kastelic,
Špela Malovrh

Ljubljana, 2024

Naslov publikacije:

Uporaba genomskih informacij pri selekciji prašičev

Avtorji:

Milena Kovač, Anita Ule, Karmen Ložar, Irena Ule,
Stanka Pavlin, Andrej Kastelic, Špela Malovrh

Slikovno gradivo:

arhiv Enote za prašičerejo Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete

© Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2024. Vse pravice pridržane.

Založila in izdala:

Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani, Oddelek za zootehniko

Za založbo in izdajatelja:

prof. dr. Marina Pintar, dekanja Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani

Oblikovanje in prelom:

Špela Malovrh

Tisk:

Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Naklada:

150 izvodov

1. izdaja

Ljubljana, 2024

Cena: Publikacija je brezplačna

CIP - Kataložni zapis o publikaciji Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

636.4.082.23:575.111

UPORABA genomskih informacij pri selekciji prašičev / Milena Kovač ... [et al.] ; [slikovno gradivo arhiv Enote za prašičerejo Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete]. - 1. izd. - Ljubljana : Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani, Oddelek za zootehniko, 2024

ISBN 978-961-6204-87-3 COBISS.SI-ID 218302979

Kazalo

1	Gen RyR1	5
1.1	Kratek povzetek literature	5
1.2	Stanje v naših populacijah	6
2	Gen PRKAG3	9
2.1	Kratek povzetek literature	9
2.2	Stanje v naših populacijah	10
3	Gen GBP1	13
3.1	Kratek povzetek literature	13
3.2	Stanje v naših populacijah	14
4	Gen GBP5	17
4.1	Kratek povzetek literature	17
4.2	Stanje v naših populacijah	17
4.3	Povezava genov GBP1 in GBP5	19
5	Gen MUC4	21
5.1	Kratek povzetek literature	21
5.2	Stanje v naših populacijah	21
6	Gen FUT1	25
6.1	Kratek povzetek literature	25
6.2	Stanje v naših populacijah	25
6.3	Povezava med genoma MUC4 in FUT1	27
7	Gen LEP	29
7.1	Kratek povzetek literature	29
7.2	Stanje v naših populacijah	30
8	Gen LEPR	33
8.1	Kratek povzetek literature	33
8.2	Stanje v naših populacijah	34
9	Gen MTTP	37
9.1	Kratek pregled literature	37
9.2	Stanje v naših populacijah	37

10 Gen VRTN v slovenski populaciji prašičev	39
10.1 Kratek povzetek literature	39
10.2 Stanje v naših populacijah	39
10.3 Asociacijska analiza gena VRTN s številom funkcionalnih seskov	41
11 Inbriding in sorodstvo z vključitvijo informacij genotipizacije¹	43
11.1 Rodovnik oz. poreklo	43
11.2 Kratka predstavitev SNP-ov in genotipizacije s SNP-čipi	44
11.3 Kombinirana matrika sorodstva H	45
11.4 Material in metode	45
11.5 Rezultati z diskusijo	46

¹financiranje v okviru Programov za izvedbo skupnega temeljnega rejskega programa na področju govedoreje, reje drobnice, prašičereje in konjereje za leto 2024 (POGODBA št. 2330-24-000135)

Predgovor

Pred vami je knjižica, ki povzema možnosti uporabe genomskih informacij pri selekciji in ohranjanju genetske variabilnosti. Z genomskimi informacijami pridobimo nova orodja, ki lahko pripomorejo k izboljšanju populacij, rekonstrukciji populacij, spremljanju in ohranjanju genetske pestrosti in pasemske pripadnosti mesa ali mesnih izdelkov.

Najprej smo genomske informacije uporabili za preverjanje starševstva in rodovnika (porekla). Za preverjanje starševstva potrebujemo rezultate genotipizacije pri živali, očetu in materi, pri preverjanju rodovnika pa se zahteva preveritev starševstva za več generacij. Če genomskih informacij za starša ali prednike nimamo, poreklo ni v celoti preverjeno. Kadar je le mogoče, poiščemo ali odvzamemo vzorec tkiva za negenotipizirano žival in naknadno dopolnimo preveritev.

Nadaljevali smo s poskusom preveritve pasemske pripadnosti mesa ali mesnega izdelka pasmi krškopoljski prašič. Vzorcju mesa ali izdelka smo poskušali najti starše ali bližnje sorodnike v izbrani populaciji. Kadar najdemo starše, je bil prašič staršev krškopoljskega prašiča, ki so vpisani v rodovniško knjigo. Pri ostalih možnih sorodnikih je določitev lahko manj zanesljiva. Za sorodnike se določi koeficient genomskega sorodstva, preveri število sorodnikov znotraj pasme in sorodstvo z ostalimi prašiči v populaciji. Metodo je možno uporabiti tudi pri drugih genotipih prašičev, rojenih doma.

Metodo smo uporabili tudi za iskanje staršev pri zavrnenih porekljih, pri plemenskih živalih ali podmladku pa smo razširili tudi ujemanje z rodovniškimi podatki in plodnostjo. Četudi starše najdemo, a ne moremo zagotovo potrditi datuma rojstva in ujemanja z drugimi podatki, ostane poreklo za plemenske živali zavrjeno. Z genotipizacijo se starše lahko zagotovo zavrne, ne da pa se jih zagotovo najti in potrditi. Pri ljudeh zato kljub možnosti preverjanja starševstva skrbno vodijo matično knjigo, ki jo pri živalih predstavljajo rodovniške knjige. To pa pomeni, da moramo prašiče še naprej enolično označevati z ušesno številko in zbirati podatke. Kot boste ugotovili ob prebiranju gradiva je zelo pametno zbirati še kakšno meritev več.

V nadaljevanju smo na kratko povzeli raziskave pri posameznih genih. Izbor temelji na tem, da ga lahko zaznamo na naših genomih, da so zanimivi za uporabo pri rejškem delu in smo v literaturi našli pomen. Gene prepoznavamo po različicah, ki so pogojene z aleli na določenem mestu (SNP-u) v genomu. SNP je kratica za polimorfizem posameznega nukleotida (*ang. single nucleotide polymorphism*) in je različica posameznega nukleotida (Børsting in Morling, 2013), ki imajo na istem mestu v genomu različen nukleotid. Takih mest je veliko. Pri sorazmeroma redkih SNP-ih so dokazali in pojasnili vzrok, ki vodi do zaželenih in nezaželenih posledic. Tako določene gene z velikim učinkom lahko uporabimo pri odbiru plemenskih živali. Pri velikem številu genov so raziskovalci tudi potrdili povezavo s prirejo in drugimi želenimi lastnostmi, vendar pa niso mogli razložiti neposreden vzrok s posledicami za te lastnosti. Ti SNP-i se lahko nahajajo znotraj gena, v njegovi bližini in celo na območju, ki ne prenaša življenjsko pomembnih informacij.

Pri večini genov so poročali o vplivu na različne lastnosti. Gen RyR1 smo najprej spoznali kot gen za občutljivost na stres in kakovost mesa. Tudi gen PRKG3 je povezan s kakovostjo mesa in se je dominanten mutiran alel razširil zaradi selekcije

na mesnatost. Pri genih, povezanih z odpornostjo na bolezen, so spremljali tudi povezavo s prirejo. Prav tako tudi pri drugih genih so proučevali povezave z več lastnostmi. Pri označevalcih, med katere uvrščamo te SNP-e, pa pogosto najdemo v literaturi tudi nasprotujoče rezultate. Povezave med prebranim označevalcem in skritim SNP-om v genu z velikim učinkom je lahko specifična za populacijo, lahko pa se spremeni tudi med generacijami. Vsa ta množica genomskih informacije je uporabna, če se preveri povezava v domačih populacijah. Za preveritev pa se potrebuje fenotipske meritve, ki jih rejci in terenski selekcionisti vzorno zbirate in boste morali zajemati še v prihodnosti. Morebiti bomo lahko uporabili bolj sofisticirane instrumente, digitalizacija naj bi olajšala in pospešila prenos podatkov in rezultatov nazaj v rejo, še vedno pa bo potrebno kaj prešteti ali subjektivno oceniti.

Zbiranje meritev in ocen je pomembno tudi za uvedbo genomske selekcije. Iz genoma živali ne moremo neposredno prebrati vpliva na posamezne lastnosti, razen nekaterih preprostih izjem. Za posamezne SNP-e ali skupino SNP-ov, kar se imenuje haplotip, pridobimo njihovo vlogo na osnovi zbranih meritev in genotipov v referenčni populaciji, kasneje pa te učinke uporabimo pri določanju plemenske vrednosti v rani mladosti in tudi pri nekaterih nepreizkušenih živalih. V velikih populacijah je lahko nepreizkušenih kar nekaj živali, v manjših populacijah pa moramo biti pri zbiranju informacij zelo zavzeti. Vseeno pa so dokazali, da lahko dosežemo večji genetski napredek z združevanjem fenotipskih in genomskih informacij.

Genotipizacija prinaša nove informacije in nove možnosti. Razen pri potrjevanju starševstva in posameznih genih z velikim učinkom pa moramo spremljati učinke prav v naših populacijah. Rezultati so lahko specifične le za posamezno pasmo in jih ne kaže kar posploševati. Naučili smo se in zato obstaja tudi več dokazov, da moramo delati pri vsaki stvari premišljeno. Nagle in poenostavljene rešitve nas v izredno majhnih populacijah naših pasem privedejo do nepopravljivih škod.

Poglavje 1

Gen RyR1

Kakovost surovega mesa je odvisna od velikega števila genetskih in okoljskih dejavnikov, obojim so raziskovalci posvetili veliko pozornosti in izdelali priporočila za doseganje boljše kakovosti mesa. Genetske vplive na tehnološko in senzorično kakovost mesa sta povzela Sellier in Monin (1994). Med okoljske vplive uvrščamo razmere v reji, vročinski stres, spolno aktivnost, premike, transport, postopke ob in po zakolu. Znotraj pasem in hibridov je opazna velika variabilnost, razlike med pasmami oz. populacijami pa v veliki meri pripisujejo genom z velikim učinkom, predvsem genoma RyR1 in RN. V tujini se klavno-predelovalna industrija zaveda pomena tehnološke kakovosti mesa in prispeva, da se kakovost mesa izboljšuje. Kakovost mesa je možno izboljšati tudi z uporabo genomskih informacij, kar smo že potrdili z izločanjem alela P pri genu RyR1. Sellier in Monin (1994) sta za gen RyR1 ugotovila precejšnje razlike med pasmami za intramuskularno maščobo, vezavo vode, barvo in mehkobo.

1.1 Kratek povzetek literature

Gen RyR1 se pri prašičih nahaja na kromosomu 6 (Davies in sod., 1988). Poimenovali so ga po sposobnosti vezave strupenega rastlinskega alkaloida rianodina. Prašičji stresni sindrom (PSS) ali sindrom maligne hipertermije (SMH) je avtosomna recesivna genetska bolezen, ki se kaže s povečano presnovo. Vzrok bolezni je bil nastanek nove oblike gena (alela) zaradi spremembe (mutacija) na poziciji 1843, kjer se nukleotid z bazo citozin zamenjal z nukleotidom z bazo timin (C>T) in povzročilo zamenjavo aminokisline arginin v cistein (Fujii in sod., 1991; Brenig in Brem, 1992) in spremembo funkcije proteina kalcijevega kanala na sarkoplazmatskem retikulumu skeletnih mišic. Sprememba povzroči, da se kanali ne zapirajo pravočasno in se kalcijevi ioni (Ca^{2+}) sproščajo nenadzorovano. Zaradi povečane vezave ionov z beljakovino troponin se intenzivira krčenje mišic (Fujii in sod., 1991). Že dolgo je gen poznan pod imenom "HAL" oz. "halotan gen", ker so lahko sprožili PPS z uporabo anestetika halotana, ki so ga dolgo časa uporabljali pri preizkusu prašičev na občutljivost na stres. Normalen alel v gena RyR1 označujemo z N in je dominanten, nezaželeni mutirani alel pa s P, ki je recesiven.

Recesivni homozigoti (PP) so občutljivi na stres in v stresnih situacijah kažejo znake, značilne za PPS. Klinični znaki bolezni so povečanje telesne temperature (hipertermija), tresenje, togost mišic, pospešeno dihanje, metabolična acidoza (zakisanje), povečanje koncentracije ogljikovega dioksida v arterijski krvi in pordela koža, lahko pa nastopi tudi smrt (Lahucky in sod., 1997). Znake lahko sproži tudi akutni stres, npr. pri stresnem ravnanju s prašiči, zlasti ob premikih in transportu ter pri vročinskem stresu. Homozigoti (NN) so odporni na stres, podobno velja tudi za heterozigote (NP), ki pa so prenašalci nezaželenega alela P. Recesivni alel P se je razširil posredno s selekcijo na večjo mesnatost, zato so bile frekvence recesivnega alela pri izrazito mesnatih pasmah višje. Pri parjenju svinj maternalnega hibrida z merjasci genotipa PP so bila manjša gnezda ob praritvi in odstavitvi, sesni pujski so tudi slabše rasli (Čechová in sod., 2007). Pri rastočih prašičih z mutacijo so večje izgube od rojstva do zakola. V zadnjem obdobju

pri številnih populacijah opažamo, da so s selekcijo močno zmanjšali frekvenco alela P. Mutirani alel so poskušali zmanjšati najprej s halotanskim preizkusom, nato pa z uvedbo genskih testov.

Pri recesivnih homozigotih PP so lahko težave tudi po zakolu (Lefaucheur, 2001) zaradi pospešene posmrtna glikolize in hitrega znižanja pH mesa (Sellier in Monin, 1994). Posledica je blede mehko vodeno (BMV) meso, ki je manj primerno za predelavo in je nezaželeno tudi pri svežem mesu (Lahucky in sod., 1997). BMV je posledica aktivnega metabolizma v mišicah po zakolu, ki se kaže v spremenjeni maščobni sestavi, nižjem nivoju vitamina E, oksidaciji maščob, zmanjšane pH vrednosti in povečane izceje (Nürnberg in sod., 2002). Podobne spremembe je zaznati tudi pri heterozigotih NP, ki so prenašalci nezaželenega alela P. Vsebnost intramuskularne maščobe (Otto in sod., 2007) je pri dominantnih homozigotih NN večja kot pri heterozigotih NP, najmanjša pa je pri recesivnih homozigotih (PP).

1.2 Stanje v naših populacijah

Šalehar in sod. (1994) so prvič opisali pojavnost genotipa in alelov gena RyR1 v naših populacijah pri pasmah ter ugotovili nizek delež alela P pri vseh treh proučevanih pasmah. Genski test na SMH, ki smo ga uvedli leta 1992, smo kot rutinsko opravilo v preizkusu merjascev začeli uporabljati leta 1995. Tedanja metoda je temeljila na mikrosatelitinih Kratkem opis metode najdemo pri Flisar in sod. (2004), ki so navedli, da je bila frekvenca alela P pred približno 30 leti pri maternalnih genotipih okrog 12 %, pred 20 leti pa že pod 1 %. V tej študiji so proučevali 612 živali, genotipiziranih za gen RyR1. Potrdili so tanjšo slanino in večjo mesnatost pri heterozigotih NP kot homozigotih NN. Homozigotov PP je bilo premalo Flisar in sod. (2004).

Pri **slovenskem landrasu** smo genotipizirali 463 vzorcev (tabela 1). V prikazanem vzorcu je bilo ugotovljeno 97,6 % genotipa NN, heterozigotov NP je bilo samo 11. Populacija slovenskega landrasa na kmetijah izvira večinoma iz dveh selekcijskih farm, ki so jih obravnavali Flisar in sod. (2004). V celotnem obdobju, odkar določamo genotip gena RyR1, smo odbirali predvsem merjasce, ki so bili homozigoti NN. Tudi v populacijah, iz katerih smo dokupovali genetski material z namenom preprečevanja parjenja v sorodu, so izvajali selekcijo na manjšo občutljivost na stres. V raziskavi Flisar in sod. (2004) so bili vključeni le vzorci preizkušenih merjascev, v sedanjí raziskavi pa so bili zajeti vzorci obeh spolov. Tako je rezultat pričakovan, redka prisotnost heterozigotov pa dokazuje, da je alel P skoraj izločen.

Pri **slovenskem velikem belem prašiču** je bilo analiziranih le 37 vzorcev (tabela 1) v prvi vrsti z namenom preverjanja porekla pri vzreji merjascev. Od tega je bilo 33 homozigotov NN, pojavila pa sta se tudi dva heterozigota NP in dva homozigota PP. Tudi populacijo te pasme na kmetijah (dve rejí) smo najprej vzpostavili iz populacij na slovenskih selekcijskih farm, nekateri rejci pa se oskrbujejo z mladimi iz Avstrije, ali pa jih vzrejajo doma.

Pri **maternalnem hibridu 12**, pri katerem smo analizirali le 30 vzorcev, ni prisotnega alela P (tabela 1), saj smo našli le homozigote NN. Na osnovi frekvenc v čistopasemskih populacijah lahko pričakujemo, da bo večina hibridnih prašičev homozigotov NN.

Tabela 1: Frekvence genotipov in alelov za gen RyR1 po pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	NN		NP		PP		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	N	P
11	463	452	97.6	11	2.4	0	0.0	98.8	1.2
22	37	33	89.2	2	5.4	2	5.4	91.9	8.1
33	37	37	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0
44	353	270	76.5	78	22.1	5	1.4	87.5	12.5
55	172	147	85.5	24	14.0	1	0.6	92.4	7.6
88	1840	1264	68.7	552	30.0	24	1.3	83.7	16.3
Skupaj	2920	2221	76.1	667	22.8	32	1.1	87.5	12.5
Hibridi									
12	30	30	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0
43	18	18	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0
54	96	77	80.2	18	18.8	1	1.0	89.6	10.4
Maternalni genotipi									
Skupaj	530	515	97.2	13	2.5	2	0.4	98.4	1.6
Terminalni genotipi									
Skupaj	676	549	81.2	120	17.8	7	1.0	90.1	9.9

Pasma **durok** je pogosto predstavljena kot bolj odporna pasma prašičev. Analiziranih je bilo le 37 živali in pri vseh smo našli le homozigote NN (tabela 1). Tudi v raziskavi iz leta 2000 (Flisar in sod., 2004) so ugotovili le prisotnost homozigotov NN.

Pri pasmi **pietren** (slika 1) je bilo opravljenih 353 genotipizacij in od tega je le 5 živali ali 1,4 % homozigotov PP za gen RyR1, dobra petina živali je bila heterozigotov NP, preostale tri četrtine prašičev pa je homozigotov NN (tabela 1). Alel P se v opazovanem vzorcu pojavlja s frekvenco 12,5 %. Pred letom 2000 so bile vse preverjene živali genotipa PP, po letu 2000 se je populacija pietrena povečala, frekvenca alela P (77,9 %) pa je bila še vedno visoka (Flisar in sod., 2004). Frekvenco alela N smo povečali na račun uvoza na stres odpornih merjascev iz nemške selekcijske hiše BHZP. Zaključimo lahko, da je bila selekcija proti genotipu, ki povzroča SMH pri pasmi pietren, uspešna, vendar pa jo kaže še nadaljevati.

Pri pasmi **slovenski mesnati landras** je bilo analiziranih 172 vzorcev (tabela 1), od katerih je bilo 174 vzorcev ali 85,5 % homozigotov NN, 24 heterozigotov NP in 1 recesiven homozigot PP za gen RyR1. Frekvenca alela P je nizka in znaša 7,6 %. Pred 30 leti je frekvenca alela P v plemenski čredi znašala okoli 22 % (Šalehar in sod., 1994), pri Flisar in sod. (2004) je bil delež recesivnega alela v letu 2003 še visok na obeh farmah. S preselitvijo populacije na kmetije, ob vseh težavah, ki jim je bila populacija izpostavljena, z oplemenjevanjem populacije s semenom merjascev iz Belgije in načrtno odbiro smo uspeli znatno zmanjšati frekvenco alela P.



Slika 1: Merjasec pasme pietren, znane po občutljivosti na stres

Pri **hibridu 54** je frekvenca alela P 10,4 %, glede na frekvenco alelov pri pasmah slovenski mesnati landras in pietren je frekvenca alelov in genotipov pri genu RYR1 pričakovana. V letu 2003 (Flisar in sod., 2004) je bila frekvenca recisivnega alela večja. Ugodne spremembe so posledica selekcije pri izhodiščnih pasmah.

V populaciji **krškopoljskih prašičev** smo genotipizirali največje število vzorcev tkiv prašičev, saj smo z genotipizacijo pričeli že leta 2020 v sklopu projekta EIP. Znanih imamo 1840 genotipov. Prevladujejo (68,7 %) dominantni homozigoti NN (tabela1). Heterozigoti NP, ki so prenašalci alela P pri genu RyR1, predstavljajo kar slabo tretjino vseh analiziranih vzorcev pri tej pasmi, recisivni homozigoti PP pa so se pojavili pri 24 vzorcih (1,3 %). Frekvenca alela P je v proučevanem vzorcu 16,3 %, kar je nekoliko manj, kot so navedli Krhlanko in sod. (2021) v analizi vseh analiziranih vzorcev ne glede na metodo. Prve analize gena RyR1 so opravili Muñoz in sod. (2018) v raziskavi evropskih avtohtonih pasem prašičev zabeležili frekvenco alela P v 21 % pri krškopoljskem prašiču, kar je bilo največ med zajetimi pasmami. Delež nezaželenega recisivnega alela nas je presenetil, saj bi pri avtohtonih pasmi pričakovali manjšo občutljivost na stres.

Pri krškopoljskem prašiču izvajamo selekcijo na genotip pri genu RyR1 po letu 2019. Kmetje so bili že prej informirani o vplivu gena RyR1 na stres in kakovost mesa, nismo pa vedno imeli izvedenega genskega testa. Po letu 2019 iščemo merjasce, ki so homozigoti NN in se heterozigote NP odbira le izjemoma. Tudi pri svinjah naj bi bili rejci pozorni na rezultat pri genu RyR1. Predvsem zaradi odbire merjascev se je delež alela P v populaciji začel zmanjševati.

Poglavje 2

Gen PRKAG3

Drugi gen, ki naj bi tudi povzročal večje razlike med pasmami, je gen PRKAG3. Je gen z velikim učinkom na kakovost mesa in prirejo. Gen je povezan z večjo mesnatostjo. Negativni učinki se kažejo po zakolu in so bili najbolj izraziti pri pasmi hempšir in njenih komercialnih tripasemskih križancih. Začetno zniževanje pH vrednosti po zakolu ni hitrejša, končna vrednost pa je bistveno nižja (Reinsch in sod., 1997). Pri prenašalcih dominantnega mutiranega alela je meso blede, bolj sočno in nežno ter ima izrazitejši okus in vonj. To meso so označili najprej poimenovali po pasmi hempšir (Monin in Sellier, 1985), kasneje pa poimenovali v "kislo meso". Več študij izpostavlja, da je gen PRKAG3 ključen povzročitelj razlik za vrednost pH, intenzivnost barve (L^*) in vezavo vode pri prašičjem mesu (Uimari in Sironen, 2014).

2.1 Kratek povzetek literature

Gen PRKAG3 se pri prašičih nahaja na kromosomu 15. Kodira protein, imenovan AMP-aktivirana protein kinaza (AMPK), ki igra ključno vlogo pri regulaciji presnove glukoze v mišicah. Aktivna oblika encima zavira sintezo glikogena in stimulira njegovo razgradnjo (Milan in sod., 2000). V genu PRKAG3 je najdenih več SNP-ov in haplotipov, ki vplivajo na različne lastnosti kakovosti mesa pri prašičih (Milan in sod., 1996; Mariani in sod., 1996; Reinsch in sod., 1997). Predstavili bomo SNP-a z referenčnima številka rs1109104772 in rs1108399077.

V genu PRKAG3 ima največji vpliv na kakovost mesa pri prašičih gen RN. Pri pasmi hempšir se je dominantni alel RN^- močno razširil zaradi ugodnega učinka na hitrost rasti in mesnatost, istočasno pa prašiči niso izražali bolezni zaradi kopičenja glikogena v mišicah (Enfält in sod., 1997). Mutacija povzroča povečano vsebnost glikogena v skeletnih mišicah (Milan in sod., 2000). Gen so proučevali številni raziskovalci, genski test pa so uvedli de Vries in sod. (1998), kasneje pa so Jeon in sod. (2001) identificirali vzročno mutacijo. Zaradi neugodnega ekonomskega učinka pri predelavi mesa so se rejske organizacije zastavile za cilj, da nezaželeni alel eliminirajo. Hamilton in sod. (2000) ter Škrlep in sod. (2010) navajajo, da mutacija v genu RyR1 in mutacija RN^- negativno vplivata na tehnološko kakovost prašičjega mesa, zato je najslabša kakovost mesa pričakovati ob hkratni prisotnosti obeh mutacij.

V delu gena PRKAG3, kjer se nahaja gen RN, se nahaja SNP z referenčno številko rs1109104772, pri katerem se nukleotid z bazo G zamenja z nukleotidom z bazo A ($G>A$). Mutiran alel A je dominanten in povezan z večjo mesnatostjo klavnih trupov (Le Roy in sod., 2000) in večjo vsebnostjo intramuskularne maščobe. Njegov glavni fiziološki učinek pa je povečano nalaganje glikogena v mišicah (Fernandez in sod., 1992). Ker mišica ob zakolu vsebuje veliko glikogena, se poveča obseg glikolize, kar se pri nosilcih mutacije RN^- izrazi z nižjo končno vrednostjo pH v mesu. T.i. kislo meso ima tudi slabšo sposobnost vezave vode in svetlejšo barvo (Hamilton in sod., 2000). Pri toplotni obdelavi (kuhanju) izgubi meso veliko vode, prav tako je manj izplena pri predelavi. Alel 200Q je edini, ki so ga našli samo pri



Slika 1: Merjasec pasme hempšir

prašičih pasme hempšir z genotipom RN^-RN^- . Gen RN so v slovenski populaciji proučevali na Kmetijskem Inštitutu Slovenije (Škrlep in sod., 2009, 2010).

Pri drugem SNP-u z referenčno številko rs1108399077 v genu $PRKAG3$ je ugotovljena zamenjava nukleotida z bazo G z nukleotidom z bazo A ($G>A$) in ima sinonim Val199Ile. Med proučevanimi polimorfizmi na genu $PRKAG3$ ima tudi polimorfizem Val199Ile pomemben vpliv na vrednost pH in barvo mesa. Omenjen SNP so proučevali Ciobanu in sod. (2001) in navedli, da je alel A (199Ile) ugodnejši, saj je povezan z nižjo vsebnostjo glikogena, temnejšo barvo, višjo vrednostjo pH in manjšo izcejo (Ciobanu in sod., 2001; Otto in sod., 2007). Zaznali so najvišjo frekvenco genotipa AA pri pasmi berkšir (74 %), ki je znana po dobri kakovosti mesa.

2.2 Stanje v naših populacijah

Med SNP-i, ki smo jih dobili z genotipizacijo s čipom GGP 50K, smo v genu $PRKAG3$ našli tudi SNP z referenčno številko rs1109104772, a v naših genomskih informacijah ni bil uspešno prebran. Ker je mutirani alel najden le pri pasmi hempšir, ga v naših populacijah ne pričakujemo, saj smo le nekaj časa uporabljali merjasce terminalnega hibrida s pasmo hempšir. V nadaljevanju prikazujemo le frekvence SNP-a rs1108399077 v genu $PRKAG3$.

Pri maternalni pasmi **slovenski landras** (tabela 1), pri kateri smo imeli na voljo 180 genotipiziranih vzorcev, je bil največkrat (57,2 %) prebran za kakovost mesa manj ugoden homozigot GG, heterozigotov GA pa je bila tretjina (34,4 %). Zaželeni homozigot AA se je pojavil le pri 15 prašičih. Iz razmerja genotipov je povsem pričakovano, da se v populaciji 3-krat pogosteje pojavlja alel G kot zaželen alel A. Pri pasmi **slovenski veliki beli prašič** imamo znane genotipe le za 8 prašičev. Našli smo 4 homozigote GG in 4 homozigote AA (tabela 1).

Pri **maternalnih hibridih** imamo rezultate samo za 16 živali ženskega spola. Opazovana frekvenca genotipa GG je 75,0 % in genotipa GA 25,0 %, kar znatno odstopa od pričakovane frekvenca genotipov na osnovi frekvenca alelov pri pasmah, ki sta soudeleženi pri križanju. Pričakovali bi več homozigotov GG (37,2 %) in tudi 12,8 % homozigotov AA, heterozigotov AG pa naj bi bilo dve tretjini. Ker je število uspešno prebranih SNP-ov pri maternalni pasmi slovenski veliki beli prašič in hibridih 12 majhno, so tudi rezultati manj informativni. Lahko pa zaključimo, da je frekvenca alela A pri maternalnih genotipih razmeroma majhna.

Tabela 1: Frekvenca genotipov in alelov za SNP rs1108399077 v genu PRKAG3 po pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	GG		GA		AA		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	G	A
11	180	103	57.2	62	34.4	15	8.3	74.4	25.6
22	8	4	50.0	0	0.0	4	50.0	50.0	50.0
33	15	6	40.0	5	33.3	4	26.7	56.7	43.3
44	134	25	18.7	52	38.8	57	42.5	38.1	61.9
55	80	12	15.0	39	48.8	29	36.3	39.4	60.6
88	275	150	54.6	64	23.3	61	22.2	66.2	33.8
Skupaj	692	300	43.4	222	32.1	170	24.6	59.4	40.6
Hibridi									
12	16	12	75.0	4	25.0	0	0.0	87.5	12.5
54	37	9	24.3	12	32.4	16	43.2	40.5	59.5
Maternalni genotipi									
Skupaj	204	119	58.3	66	32.4	19	9.3	74.5	25.5
Terminalni genotipi									
Skupaj	266	52	19.5	108	40.6	106	39.8	39.8	60.2

Pri pasmi **durok** imamo rezultate le za 15 prašičev. Med uspešno prebranimi genotipi je dve petini homozigotov GG (40 %), dobra četrtina (26,7 %) je homozigotov AA, preostanek (33,3 %) pa je heterozigotov GA. Alel G je nekoliko pogostejši (56,7 %) kot alel A. V Sloveniji pasmo ponovno vzpostavljamo prav zaradi boljše kakovosti mesa, zato je razmerje alelov G in A pričakovano. Populacija pasme durok se šele oblikuje, zato tudi malo opravljenih analiz.

Pietren je najpogostejša terminalna pasma merjascev, ki slovi po odlični mesnatosti in slabši kakovosti mesa. Prebranih imamo 134 genotipov za SNP rs1108399077 (tabela 1). Slaba petina (18,7 %) genotipiziranih prašičev pasme pietren ima genotip GG. Heterozigote GA smo ugotovili pri dveh petinah (38,8 %) vzorcev, razmeroma pogosti pa so bili tudi želeni homozigoti AA (42,5 %). V delu pregledane populacije je znašala frekvenca alela A kar 61,9 %. Slabša kakovost mesa je bolj verjetno posledica mutacije na genu RyR1, pogostnost katere pa se je v zadnjih letih že precej zmanjšala.

Pri pasmi **slovenski mesnati landras**, pri kateri imamo genotipiziranih 80 vzorcev, je zelenih homozigotov AA dobra tretjina (36,3 %), homozigotov GG pa le 15,0 % (tabela 1). Heterozigotov AG je največ, in sicer polovica. Frekvenca alela G (39,4 %) in A (60,6 %) je podobna kot pri pasmi pietren.

Pri **hibridu 54** je bilo uspešno genotipiziranih 37 merjascev, ki so bili ali naj bi bili odbrani za plemo. Glede na frekvence alelov pri pasmah, ki se jih uporablja pri tem križanju, smo izračunali pričakovano frekvenco posameznih genotipov. Opazovana frekvenca homozigotov GG (24,3 %) presega pričakovano vrednost (15,0 %), pri heterozigotih GA je pričakovana (47,5 %) frekvenca večja kot opazovana (32,4 %), tako je homozigotov AA (43,2 %) znatno več, kot bi pričakovali (37,5 %). Vzrok je lahko v premajhnem vzorcu, v razliki v frekvenci genotipov med spoloma, nenaključnem parjenju in večjem številu sorodnih merjascev, ki se uporabljajo.

Kot smo že omenili, je bila največja pogostost alela A (75,0 %) ugotovljena pri pasmi berkšir (Ciobanu in sod., 2001), ki je znana po dobri kakovosti mesa. Pri pasmah, selekcioniranih na mesnatost, naj bi bila frekvenca alela A nižja, saj je alel G povezan z večjo mesnatostjo. V naših populacijah terminalnih pasem in hibridov je zastopanost alela A za okrog 20 % večja kot alela G, le pri pasmi durok je obratno. Alel A kodira aminokislino izoleucin, ki privede do manjše vsebnosti glikogena in s tem boljšo kakovost mesa.

Pri **krškopoljskem prašiču** smo uspešno prebrali SNP (tabela 1 pri 275 prašičih). Pri dobri polovici (54,6 %) vzorcev je zastopan za kakovost mesa manj ugoden homozigot GG, pri 22,2 % prašičev smo dobili homozigote AA. Iz tega sledi, da so heterozigoti GA najdeni v slabi četrtini vzorcev (23,3 %). Alela G je v pregledanem vzorcu 2-krat toliko kot zaželenega alela A. Muñoz in sod. (2018) v študiji navajajo, da je pri krškopoljskem prašiču, pri katerem so obravnavali 36 vzorcev, frekvenca alela G 78,0 % in alela A 22,0 %. Naši rezultati so nekoliko bolj ugodni, saj smo zaznali večjo frekvenco zelenega alela A, in to na večjem vzorcu živali. Pri ostalih avtohtonih pasmah so bili deleži alel zelo raznoliki Muñoz in sod. (2018).

Poglavje 3

Gen GBP1

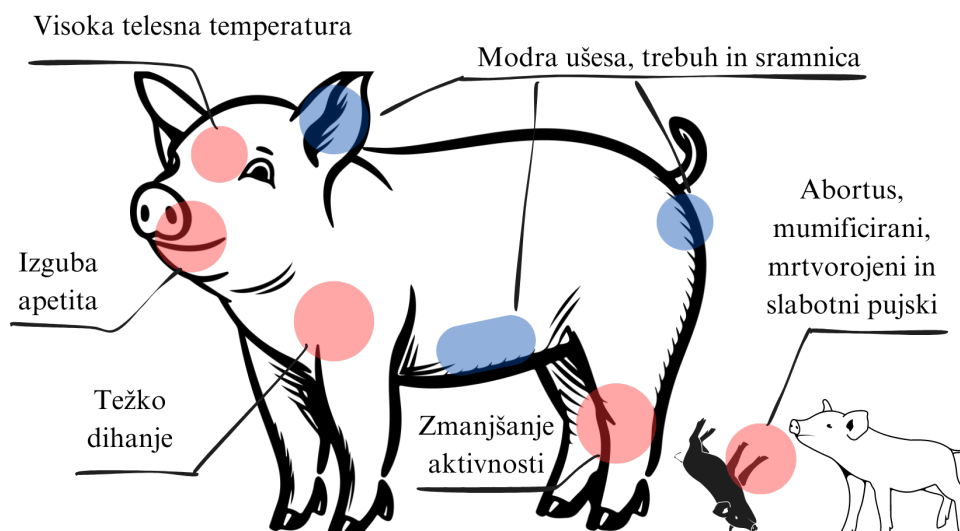
Praščji reproduktivni in respiratorni sindrom (PRRS) je gospodarska bolezen, ki je razširjena po vsem svetu ter povzroča gospodarsko škodo zaradi plodnostnih motenj pri svinjah in respiratornih težav pri vseh starostnih kategorijah prašičev (Rossow, 1998; Zimmerman in sod., 2011). Živali imajo visoko telesno temperaturo, težko dihaljo, izgubijo ješčnost in imajo lahko pomodrele uhlje, trebuh in sramnico (slika 1). Več je abortusov, v gnezdu pa se rodijo manj razviti in manj vitalni pujski (slika 2). Smrtnost ob porodu in po njem je povečana. PRRS povzroča virus iz družine *Arteriviridae*, poznani pa sta dve skupini oz. tipa, in sicer tip PRRSV-1, ki izvira iz Evrope, in severnoameriški tip PRRSV-2, ki naj bi se razvijala povsem ločeno (Nelsen in sod., 1999). V Sloveniji je bil prvi znani pojav bolezni PRRS pri prašičih v karanteni v letu 1994, med letoma 1995 in 2004 so izvajali monitoring na virus PRRS pri plemenskih prašičih s serološkimi preiskavami, pozitivnih rezultatov je bilo zelo malo (Valenčak, 2004). Že Toplak in sod. (2012) so nekaj let kasneje za manjše reje ugotovili, da imamo v Sloveniji veliko okuženih rej in veliko pestrost različic virusa PRRS, kar pomeni, da so se reje okužile iz zelo različnih virov, kot posledica nakupa prašičev brez poznavanja njihovega statusa glede bolezni.

3.1 Kratek povzetek literature

Pri prašičih se na kromosomu 4 nahaja QTL, ki je povezan z odzivom gostitelja na virus PRRS. Pri prašičih omenjeni QTL vsebuje gene za pet gvanilat vezavnih proteinov (*ang. guanylate-binding protein*, GBP), ki so tudi potencialni geni z velikim učinkom. Gena GBP1 in GBP5 sta odgovorna za učinkovito protivirusno delovanje in lahko zagotovita obrambo pred različnimi RNA virusi ter sta tako povezana tudi z odpornostjo prašičev na okužbo z virusom PRRS. Genetsko osnovo odpornosti prašiča na virus PRRS so odkrili Boddicker in sod. (2012) na osnovi asociacijske študije na celotnem genomu. Znotraj omenjenega QTL se nahaja regija 139136697–140420778 (Koltes in sod., 2015), za katero so Boddicker in sod. (2012) ugotovili značilno povezavo z nivojem viremije in dnevnim prirastom v času okužbe.

Prekomerno izražanje gena GBP1 znatno preprečuje okužbo z virusom PRRS, medtem ko se ob utišanjem (*ang. knockdown*) genu GBP1 virusna okužba bolj razširi (Duan in sod., 2022). Dokazali so tudi, da gen GBP1 preprečuje okužbo z virusom PRRS in medcelično širjenje, kar bi lahko delno pripisali motnji v tvorbi aktinskih filamentov, ki so sestavni del citoskeleta. Nepoškodovana struktura citoskeleta je potrebna za uspešno razmnoževanje virusa PRRS znotraj gostitelja.

SNP v prej omenjeni regiji, ki so ga Boddicker in sod. (2012) poimenovali WUR10000125 (WUR), je polimorfizem G>A in je v podatkovni zbirki (Martin in sod., 2023) označen z referenčno številko rs80800372. Nahaja se v 3' neprevedeni regiji (3'UTR) gena GBP1 in lahko vpliva na stabilnost prepisa ter posledično na hitrost sinteze beljakovin. Gen GBP1 ima proksimalno in distalno poliadenilacijsko mesto, zaradi česar nastajata dve različni dolžini 3'UTR mRNA prepisa.



Slika 1: Klinični znaki za virusno bolezen PRRS

Alel A daje krajši in stabilnejši prepis, ker se poliadenilacija prekursorske mRNA začne na proksimalnem mestu. Za alel G se začne poliadenilacija mRNA z distalnega mesta, pri tem nastane daljši mRNA prepis (Gol in sod., 2015; Khatun in sod., 2020), ki je manj stabilen, zaradi česar je nižje izražanje mRNA gena GBP1 in boljši T-celični odziv na virus PRRS.

Študija Boddicker in sod. (2012) je pokazala, da imajo prašiči genotipa AA za WUR več virusa PRRS v krvi in slabše priraste ob okužbi v primerjavi s prašiči genotipa AG. Alel G je dominanten in je zaželen v primeru okužbe z virusom PRRS. Tudi drugi avtorji (Gol in sod., 2015; Abella in sod., 2016) so potrdili, da imajo okuženi prašiči genotipa AG nižjo viremijo in boljše priraste kot prašiči genotipa AA ter manjše izgube in nižji delež abortusov. Verjetnost za abortus je pri svinjah z genotipom AA 2,7-krat večja kot pri svinjah z genotipom AG (Pena in sod., 2019). Alel G, ki je odgovoren za odpornost na virus PRRS, ima tako zaščitno vlogo tudi pri plodnosti. Abella in sod. (2016) so pri neokuženih prašičih genotipa AG ugotovili slabše priraste v pitanju kot pri prašičih genotipa AA ter posledično sklepali, da je pri zdravih prašičih alel G nezaželen.

3.2 Stanje v naših populacijah

Med genotipiziranimi vzorci imamo SNP WUR gena GBP1 prebran za 2931 živali (tabela 1). Pri vseh pasmah in hibridih lahko vidimo, da je daleč najpogostejši alel A, ki je ugoden v rejah, kjer bolezen PRRS ni prisotna. Večjo odpornost pri okuženih živalih zagotavlja alel G, s tem pa tudi boljše priraste, manj plodnostnih motenj in manj izgub. Večja frekvenca alela A je pravzaprav pričakovana, saj se selekcija praviloma izvaja v rejah z boljšim zdravstvenim statusom.

Pri obeh maternalnih pasmah ni bilo živali genotipa GG (tabela 1). Pri **slovenskem landrasu** je bilo tri četrtine živali genotipa AA ter ena četrtina živali genotipa AG. Frekvenca alela G je znašala 11,5 %. Pri pasmi **slovenski veliki beli prašič** imamo rezultat le za 37 živali, pri čemer jih je bilo 89,2 % genotipa AA in 10,8 % genotipa

AG. Posledično znaša frekvenca alela G samo 5,4 %. Alel A, ki je neugoden za lastnosti prireje pri okužbi z virusom PRRS, ima visoko frekvenco pri slovenskem landrasu (88,5 %) in pri slovenskem velikem belem prašiču (94,6 %), najverjetneje zaradi selekcije na boljšo rast pri sodobnih pasmah. Pri **hibridu 12**, pri katerem imamo rezultat za SNP WUR v genu GBP1 pri 30 živalih (tabela 1). Opažena frekvenca homozigotov AA (96,7 %) presega pričakovano frekvenco (83,7 %) tega genotipa. Svinje hibrida 12 imajo frekvenco alela G 1,7 %, saj je bil med genotipiziranimi ugotovljen le 1 heterozigot. Dunkelberger in sod. (2017) navajajo, da je najverjetnejši vzrok za manjšo pogostost alela G, ki je ugoden za lastnosti prireje v primeru okužbe, dejstvo, da ni selektivne prednosti alela G v odsotnosti virusa PRRS. Črede, kjer izvajajo selekcijo, kot tudi testne postaje in osemenjevalna središča so največkrat prosti nalezljivih bolezni.

Tabela 1: Frekvence genotipov in alelov za gen GBP1 po pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	AA		AG		GG		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	A	G
11	464	357	76.9	107	23.1	0	0.0	88.5	11.5
22	37	33	89.2	4	10.8	0	0.0	94.6	5.4
33	37	28	75.7	8	21.6	1	2.7	86.5	13.5
44	356	285	80.1	69	19.4	2	0.6	89.8	10.3
55	177	169	95.5	8	4.5	0	0.0	97.7	2.3
88	1842	1386	75.2	413	22.4	43	2.3	86.5	13.6
Skupaj	2931	2276	77.7	609	20.8	46	1.6	88.0	12.0
Hibridi									
12	30	29	96.7	1	3.3	0	0.0	98.3	1.7
43	18	18	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0
54	96	70	72.9	25	26.0	1	1.0	85.9	14.1
Maternalni genotipi									
Skupaj	531	419	78.9	112	21.1	0	0.0	89.5	10.5
Terminalni genotipi									
Skupaj	684	570	83.3	110	16.1	4	0.6	91.4	8.6

Tudi med **terminalnimi pasmami** je frekvenca alela G za SNP WUR gena GBP1 nizka (tabela 1). Pri pasmi **durok** je bilo preverjenih 37 vzorcev, frekvenca alela G pa je le 13,5 %. Med živalmi je bilo tri četrtine homozigotov AA, petina heterozigotov AG in le 1 primer homozigota GG. Pri pasmi **pietren** je bilo preverjenih 356 vzorcev, delež genotipa AA pa je znašal 80,1 %, petina je heterozigotov, homozigota GG pa sta bila le 2. Posledično je v populaciji pietrena frekvenca alela G nizka (10,3 %). Pri pasmi **slovenski mesnati landras** je bilo pregledanih 177 vzorcev. Alel G je pri tej pasmi najbolj pogost, in sicer frekvenca znaša kar 97,7 %, alel G se je pojavil le pri 8 heterozigotih.



Slika 2: Novorojeno gnezdo pri svinji, okuženi s PRRS

Vse tri omenjene pasme imajo visoko frekvenco (praktično nad 90 %) alela A. Prašiči pasme durok imajo veliko sposobnost rasti, solidno mesnatost ter veliko vsebnost intramuskularne maščobe, ki je v prašičjem mesu zaželeno. Tudi ostali dve terminalni pasmi imata solidno rastnost, visoka frekvenca alela A zaradi selekcije na boljšo rast zato ni nepričakovana. Pri živalih **hibrida 54** (96 vzorcev) je frekvenca alela G 85,9 % (tabela 1), kar glede na starševski pasmi pričakovano. Za **hibrid 43** imamo le pri 18 vzorcih prebran genotip za SNP WUR gena GBP1. Pri njih je frekvenca alela A 100,0 %, saj so vse živali genotipa AA.

Za **krškopoljske prašiče** je bilo med genotipiziranimi vzorci prebranih 1842 vzorcev, pri čemer je frekvenca genotipa AA 75,2 % in frekvenca genotipa AG 22,4 % (tabela 1). Frekvenca genotipa GG pri krškopoljskem prašiču znaša le 2,3 %. Frekvenca alela G je tako 13,6 % in je enaka kot pri pasmi durok in višja kot pri drugih sodobnih pasmah in hibridih. To se sklada s študijo Geraci in sod. (2019), kjer so ugotovili, da je frekvenca alela G višja pri štirih italijanskih avtohtonih pasmah prašičev, kar upravičuje mnenje, da so avtohtone pasme odpornejše na bolezni kot sodobne pasme.

Poglavje 4

Gen GBP5

V raziskavah pri drugih speciesih poleg GBP1 proučujejo tudi druge gene iz družine GBP. Pri prašičih so potrdili povezavo gena GBP5 z odpornostjo na virusne bolezni in pri tem izpostavljajo predvsem odpornost na PRRS. Izguba funkcije gena GBP5 na modelu utišanega gena pri miših povzroči oslABLJENO obrambo gostitelja (Koltes in sod., 2015).

4.1 Kratek povzetek literature

Drugi SNP v že omenjeni regiji 139136697-140420778 na kromosomu 4 je SNP z referenčno številko rs340943904 v genu GBP5. Pri njem gre za mutacijo T>G, kjer je nukleotid z bazo T zamenjan z nukleotidom z bazo G, nahaja pa se v intronu 9 gena GBP5.

Alel G uvaja novo akceptorsko mesto za alternativno izrezovanje, kar povzroči vstavitve petih nukleotidov na začetek eksona 10, s čimer se spremeni prvih 10 aminokislin, ki jih kodira ekson 10. Posledično se pojavi zgodnji stop kodon ter skrajšani, nefunkcionalni protein GBP5 (Koltes in sod., 2015). Ta protein ne more zavirati vstopa in razmnoževanja virusa PRRS tako učinkovito, kot to lahko naredi nepoškodovan GBP5 protein. Pri homozigotu GG v genu GBP5 tako lahko pričakujemo slabši izid pri okužbi z virusom PRRS. Alel T ima dominanten vpliv na odpornost na virus PRRS. Pena in sod. (2019) so pokazali, da je v primeru okužb z virusom PRRS verjetnost abortusa 2,8-krat večja pri svinjah genotipa GG kot pri svinjah genotipa TG, v primerjavi s svinjami genotipa TT pa kar 4,5-krat večja. Identificirani so bili trije alternativni prepisi:

1. mRNA divjega tipa (ang. *wild type*), ki ima genotip TT in ohranjeno funkcijo GBP5 proteina,
2. mRNA z vstavljenimi petimi nukleotidnimi na 5' koncu eksona 10, ki ima alel G,
3. z ohranjenim intronom 9 v mRNA.

4.2 Stanje v naših populacijah

SNP rs340943904 v genu GBP5 smo pridobili le pri čipu 50KPlus in tako dobili genotipe za 752 živali. Prašiči z genotipom GG imajo samo nefunkcionalen protein in so posledično občutljivi na virus PRRS, imajo v primeru okužb več plodnostnih motenj, manj izgub in slabšo rast.

Pri pasmi **slovenski landras** smo imeli 184 prebranih genotipov za gen GBP5 (tabela 1). Genotip GG se je pojavil kar pri štirih petinah vzorcev, le pri 1 vzorcu smo dobili homozigota TT, petina (19,6 %) živali pa je bila genotipa GT. Alel T je zaželeni alel v povezavi z odpornostjo na virus PRRS. Alel T pri tej naši maternalni pasmi je redek (10,3 %). Alel G, ki kodira skrajšani nefunkcionalni GBP5 protein, pa je pogost (89,7 %).

Pri pasmi **slovenski veliki beli prašič** imamo genotipiziranih samo 8 vzorcev in vse živali so genotipa GG. Pri italijanskem velikem belem prašiču (Geraci in sod., 2019) je frekvenca alela T znašala 8,7 %. Pri **hibridu 12** ima 17 živali uspešno prebran SNP rs340943904, frekvenca alela T znaša 2,9 % (tabela 1). Alel T so mladičice hibrida dobile najverjetneje po materini strani. Število pregledanih živali pa je majhno.

Tabela 1: Frekvence genotipov in alelov za gen GBP5 po pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	GG		GT		TT		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	G	T
11	184	147	79.9	36	19.6	1	0.5	89.7	10.3
22	8	8	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0
33	15	13	86.7	2	13.3	0	0.0	93.3	6.7
44	148	116	78.4	31	21.0	1	0.7	88.9	11.2
55	86	76	88.4	5	5.8	5	5.8	91.3	8.7
88	311	225	72.4	82	26.4	4	1.3	85.5	14.5
Skupaj	752	585	77.8	156	20.7	11	1.5	88.2	11.8
Hibridi									
12	17	16	94.1	1	5.9	0	0.0	97.1	2.9
54	40	30	75.0	10	25.0	0	0.0	87.5	12.5
Maternalni genotipi									
Skupaj	209	171	81.8	37	17.7	1	0.5	90.7	9.3
Terminalni genotipi									
Skupaj	289	235	81.3	48	16.6	6	2.1	89.6	10.4

Genotipizirali smo samo 15 vzorcev (tabela 1) pri pasmi durok, 148 vzorcev pri pasmi pietren in 86 vzorcev pri slovenskem mesnatem landrasu. Pri **duroku** je bilo pri genu GBP5 86,7 % homozigotov GG in 13,3 % heterozigotov GT. Posledično je frekvenca alela T samo 6,7 %. Pri pasmi **pietren** je frekvenca homozigotov GG nekoliko nižja (78,4 %) kot pri duroku, pri enem vzorcu smo ugotovili homozigota TT, petina vzorcev pa je bila heterozigotov. Frekvenca genotipov in alelov je podobna kot pri slovenskem landrasu. Največ (5,8 %) homozigotov TT smo zabeležili pri pasmi **slovenski mesnati landras**. Enako pogosti so bili tudi heterozigoti GT, kar 88,4 % pa je bilo homozigotov GG. Pri **hibridu 54** so znani rezultati za 40 vzorcev, tri četrtine je bilo homozigotov GG, četrtina pa heterozigotov GT.

Pri sodobnih genotipih smo opazili, da je alela T okrog 10 % pri pasmah, pri katerih smo genotipizirali večje število živali. Spomnimo, da je alel T povezan z boljšo odpornostjo. Glede na literaturo je pričakovano, da je alel G pogostejši od alela T.

Pri pasmi **krškopoljski prašič** imamo med genotipiziranimi vzorci na čipu 50Kplus uspešno prebranih 311 vzorcev in od tega jih je 72,4 % genotipa GG, 26,4 % genotipa GT ter le 1,3 % genotipa TT (tabela 1). Frekvenca zaželenega

alela T je posledično 14,5 % in je nekoliko višja pri avtohtoni pasmi kot pri sodobnih pasmah. Rezultat se sklada s študijo Geraci in sod. (2019), ki so ugotovili pri vseh štirih italijanskih avtohtonih pasmah prašičev, da je frekvenca alela T SNP-a rs340943904 v genu GBP5 višja kot pri sodobnih pasmah, kar – podobno kot frekvenca alela A SNP-a WUR gena GBP1 – podpira prepričanje, da je odpornost avtohtonih pasem večja v primerjavi s sodobnimi pasmami. Muñoz in sod. (2018) so pri 20 evropskih avtohtonih pasmah pokazali zelo veliko raznolikost pri frekvenci alela T (0 - 42 %), pri zajetih živalih pasme krškopoljski prašič je frekvenca alela T znašala 5 %.

4.3 Povezava genov GBP1 in GBP5

Študija Koltes in sod. (2015) je pokazala, da je alel G SNP-a rs340943904 v genu GBP5 v neravnovesju zaradi vezave z alelom A v SNP-u WUR v genu GBP1, ki je tudi povezan s slabšo odpornostjo na PRRS. Prav tako je alel T v genu GBP5 v neravnovesju zaradi vezave z zaželenim alelom G SNP-a WUR v genu GBP1. V raziskavi Jeon in sod. (2021) so imeli vsi prašiči z genotipom GG na genu GBP1 tudi genotip TT gena GBP5, kar nakazuje na vezavo teh dveh SNP-ov, kar se ujema tudi s starejšo študijo Koltes in sod. (2015).

Koltes in sod. (2015) so pokazali, da je bila mRNA gena GBP5 različno izražena v krvi prašičev z genotipom AA SNP-a WUR v genu GBP1 v primerjavi z genotipom AG, merjena 7, 11 ter 14 dni po okužbi z virusom PRRS. Vse genske različice pri genu GBP5 so v neravnovesju zaradi vezave z genom GBP1 in so pokazale alelno specifično izražanje. Uvajanje novega akceptorskega mesta, ki vstavi petih nukleotidov v mRNA gena GBP5, so identificirani pri prašičih z genotipom AA pri genu GBP1, vendar je bila veliko redkeje zaznana pri prašičih z genotipom AG gena GBP1. Prepis divjega tipa je bolj izražen pri prašičih genotipa AG kot pri genotipu AA gena GBP1. Za ohranjen intronski zapis niso opazili nobene razlike v izražanju med genotipi gena GBP1. V italijanski raziskavi Geraci in sod. (2019) niso našli povezave z lastnostmi prireje v okolju brez virusa PRRS, če so odbirali živali na alele, ki izboljšujejo odpornost na PRRS virus pri genih GBP1 in GBP5. Tudi številni drugi avtorji iščejo pri genih z večjim učinkom na odpornost morebitno povezanost s prirejo. Rezultati se med populacijami in po generacijah razlikujejo. Brez rednega preverjanja učinkov ima lahko selekcija na odpornost negativne posledice.

V Sloveniji smo ugotovili 635 živali, ki imajo genotip AA v genu GBP1 in genotip GG v genu GBP5, kar predstavlja 84,4 % vzorcev. Živali, ki so homozigot GG v genu GBP1 in homozigot TT v genu GBP5, so bile samo štiri. Bolj pogoste so živali, ki so heterozigoti za oba gena, in sicer so se pojavili 164-krat, kar predstavlja 21,8 % vseh vzorcev. Ostalih kombinacij je bilo samo 9. Gena se nahajata sorazmeroma blizu, med njima praktično ne prihaja do rekombinacij in zato se alela za oba gena dedujeta praktično samo v parih.

Poglavje 5

Gen MUC4

Različni sevi enterotoksične bakterije *Escherichia coli* (ETEC) so med prevladujočimi etiološkimi dejavniki, ki so odgovorni za pojavnost driske pri sesnih pujskih in tekačih zlasti v prvih dneh po odstavitvi. Genetska odpornost na drisko, ki jo povzroča enterotoksin *E. coli*, določa prisotnost ali odsotnost površinskih receptorjev gostiteljevih črevesnih celic na bakterijske fimbrije, ki so najpomembnejši dejavnik pri določanju virulence za seve *E. coli*. Z uporabo invazivnih *in-vitro* testov adhezije je mogoče odporne prašiče prepoznati po veliko manjšem številu bakterij, pritrjenih na površino črevesnih celic v primerjavi z občutljivimi prašiči (Geraci in sod., 2019). Izkazalo se je, da so sevi *E. coli*, ki imajo fimbrije F4 z različnimi kombinacijami antigenskih različic F4ab in Fac, najbolj razširjeni sevi, ki povzročajo drisko pri sesnih pujskih (Fontanesi in sod., 2012).

5.1 Kratek povzetek literature

Za občutljivost na *E. coli* je odgovoren dominantni alel avtosomnega lokusa za receptor F4 različice Fab/Fac (*F4bcR*), medtem ko recesivni alel omogoča odpornost zaradi odsotnosti receptorjev (Fontanesi in sod., 2012). Lokus *F4bcR* se pri prašičih nahaja na kromosomu 13 v regiji, kjer se nahaja gen za mucin 4 (MUC4), ki velja za močan, položajni in funkcionalni kandidatni gen za lokus *F4bcR*.

Kot označevalec za gen MUC4 lahko služi SNP rs338992994 v intronu 7 z zamenjavo C>G, saj je v neravnovesju zaradi vezave z receptorjem za seve *E. coli*, ki imajo fimbrije F4 z obema antigenskima različicama Fab ali Fac, in se dedujeta skupaj. Alel G tega SNP-a je povezan s prisotnostjo receptorja in s tem dovzetnostjo za drisko pri sesnih pujskih, medtem ko je alel C povezan z odsotnostjo receptorja in izboljšuje odpornost. Živali z genotipom GG in CG so občutljive na *E. coli*, ker imajo receptor F4. Tako je samo genotip CC odporen na *E. coli*. Mucini igrajo tudi številne druge pomembne vloge pri rasti, razvoju plodu, obnavljanju in diferenciaciji epitela, celovitosti epitela, karcinogenezi in metastazah (Fontanesi in sod., 2012). Polimorfizmi v genu MUC4 bi bili lahko povezani tudi z drugimi pomembnimi proizvodnimi lastnostmi.

5.2 Stanje v naših populacijah

Genotipe za gen MUC4, ki je povezan z odpornostjo na drisko pri sesnih pujskih, imamo prebrane pri 737 vzorcih. Bolj odporni na drisko so sesni pujski, ki so homozigoti CC v genu MUC4.

Pri pasmi **slovenski landras** imamo rezultate za 182 živali. Alela C in G sta pravzaprav enako zastopana. Tako pričakujemo četrtno enih in drugih homozigotov in polovico heterozigotov. V vzorcih smo dobili le nekaj več (28,0 %) zelenih homozigotov CC na račun heterozigotov. Pri pasmi **slovenski veliki beli prašič** imamo le 8 rezultatov, frekvenci alelov A in C sta enaki. Dobili smo po 2 homozigota in 4 heterozigote. Pri maternalnem **hibridu 12** smo genotipizirali 17 vzorcev, frekvence pa so pričakovano podobne tistim pri maternalnih pasmah.

Tabela 1: Frekvence genotipov in alelov za gen MUC4po pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	CC		CG		GG		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	C	G
11	182	51	28.0	85	46.7	46	25.3	51.4	48.6
22	8	2	25.0	4	50.0	2	25.0	50.0	50.0
33	15	15	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0
44	143	47	32.9	81	56.6	15	10.5	61.2	38.8
55	79	60	76.0	18	22.8	1	1.3	87.3	12.7
88	310	268	86.5	40	12.9	2	0.7	92.9	7.1
Skupaj	737	443	60.1	228	30.9	66	9.0	75.6	24.4
Hibridi									
12	17	4	23.5	8	47.1	5	29.4	47.1	52.9
54	40	28	70.0	11	27.5	1	2.5	83.8	16.3
Maternalni genotipi									
Skupaj	207	57	27.5	97	46.9	53	25.6	51.0	49.0
Terminalni genotipi									
Skupaj	277	150	54.2	110	39.7	17	6.1	74.0	26.0

Pri pasmi **durok** smo pregledali 15 vzorcev in vsi so bili homozigoti CC. Med 143 prebranimi genotipi pri živalih pasmi **pietren** smo dobili največ (56,6 %) heterozigotov CG in tretjino (32,9 %) homozigotov CC ter desetino (10,5 %) homozigotov GG. Tako je v populaciji pietrena razmerje alelov C : G enako 3 : 2. Pri pasmi **slovenski mesnati landras** smo zabeležili 60 homozigotov CC med 79 analiziranimi vzorci, kar predstavlja 76,0 %, heterozigotov CG je bili 22,8 %, medtem ko je bil homozigot GG en sam. Tako ima pasma slovenski mesnati landras poleg pasme durok največjo frekvenco alela C med sodobnimi genotipi. Tudi pri **hibridu 54** smo pri 40 genotipiziranih vzorcih našli ugodno razmerje genotipov in alelov, 70,0 % je genotipa CC, 27,5 % genotipa CG ter le en homozigot CC (2,5 %).

Pri sodobnih pasmah lahko zaključimo, da je situacija boljša pri terminalnih kot maternalnih pasmah. Ker so vse pasme majhne, nikakor ne moremo izločati vseh nezaželenih heterozigotov CG in homozigotov GG, vsekakor pa dajemo prednost homozigotom CC predvsem pri odbiru merjascev. Pri maternalnih pasmah smo se odločili za načrtni uvoz merjaščevega semena iz Švice, ki ponuja informacije tudi za gen MUC4.

Pri avtohtoni pasmi **krškopoljski prašič** imamo poznan genotip za gen MUC4 za 310 vzorcev. Odpornih homozigotov CC je 86,5 %, heterozigotov CG 12,9 %, v vzorcu sta bila tudi dva homozigota GG. Posledično frekvenca zelenega alela C znaša 92,9 %, alel G je precej manj pogost (7,1 %). Struktura genotipov je ugodna, možno pa je postopno izločevanje alela G z odbiro plemenskega podmladka z genotipom CC, če to dopuščajo ostali kriteriji pri odbiru.



Slika 1: Tekachi, ki so odlično prestali odstavitev

Poglavje 6

Gen FUT1

Prvi dnevi po odstavitvi so precej stresno obdobje za odstavljene pujske in takrat je večja verjetnost za pojav drisk. K uspešnosti reje odstavljenih pujskov lahko pripomoremo z odbiro bolj odpornih živali, a to ne more nadomestiti priprave pujskov na odstavitev, priprave vzrejališča in dosledne oskrbe pujskov v prvih dveh tednih po odstavitvi. Dokrmeljevanje pujskov pred odstavitvijo pomaga pri pripravi sesnih pujskov na zamenjavo mleka s suho krmo na osnovi žit in soje s tem, da se začne razvijati ustrezna črevesna mikrobiota. Po odstavitvi pa so slaba higiena, prenizke temperature, krmljenje po volji, mešanje starostnih skupin v istem prostoru le najpomembnejši dejavniki, ki so ugodni za pojav drisk. Selekcija na večjo odpornost pri neurejeni oskrbi ne bo dosti pomagala, lahko pa večja odpornost znatno prispeva k manjšim izgubam v optimalnih pogojih in pri urejeni oskrbi. Gen FUT1 je pomemben za odpornost na seve F18 bakterije *Echerichia coli*, ki je pogost povzročitelj poodstavitvene driske.

6.1 Kratek povzetek literature

Prisotnost receptorja F18 uravnava gen FUT1, ki se nahaja na kromosomu 6 in omogoča pritrditev *E. coli* preko fimbrij F18 z antigensko različico ab (ETEC F18ab) (Geraci in sod., 2019). SNP z referenčno številko rs335979375 v genu FUT1 je zamenjava G>A (Luc in sod., 2020), ki ima za posledico zamenjavo aminokisline alanin s treoninom ter spremenjeno aktivnost encima alfa (1,2)-fukoziltransferaze 1 (FUT1). Ta določa pritrditev sevov *E. coli* F18 in vodi k odpornosti ali občutljivosti črevesnega epitela (Bao in sod., 2008; Wang in sod., 2012). Alel A je povezan z odsotnostjo receptorja za seve *E. coli* F18, kar pomeni odpornost živali na okužbo, ki je eden od možnih vzrokov za drisko po odstavitvi. Prašiči genotipa AA so odporni na okužbo s sevi *E. coli* F18, medtem ko so prašiči genotipa AG in GG občutljivi na seve *E. coli* F18.

Geraci in sod. (2019) za prej omenjeni SNP v italijanski populaciji niso ugotovili povezave z lastnostmi prireje. Podobno poročajo tudi Luc in sod. (2020) za populacijo jorkširja, medtem ko v nekaterih drugih raziskavah ugotavljajo povezavo med genotipi za gen FUT1 in klavnimi lastnostmi ter kakovostjo mesa. V švicarskih populacijah prašičev so Meijerink in sod. (1997) potrdili razlike med genotipi gena FUT1 v rasti. Različni rezultati prireje v literaturi posredno navajajo, da je potrebno preverjati povezavo genotipov pri genih na odpornost s rezultati prireje za vsako populacijo in ugotovljenemu stanju prilagoditi postopek odbire.

6.2 Stanje v naših populacijah

V naših manjših rejah se številni rejci srečujejo z različnimi težavami po odstavitvi pujskov, tudi s pojavom drisk, zato bi bila povečana odpornost dobrodošla. Pri 753 vzorcih, ki so bili genotipizirani s čipom 50KPlus, smo lahko določili genotip za SNP rs335979375 gena FUT1 (tabela 1) in izračunali frekvenco genotipov in alelov.

Pri prašičih pasme **slovenski landras** znaša frekvenca genotipa AA samo 8,7 % (tabela 1), ki je odporen proti *E. coli* F18. Heterozigot AG se pojavlja pri 54,6 % prašičih, genotip GG pa pri 36,8 %. Oba genotipa sta občutljiva na *E. coli* F18, ki povzroča drisko pri odstavljenih pujskih. Alel A, ki je povezan z odsotnostjo receptorja F18 in s tem omogoča odpornost na okužbo, je pri tej pasmi zastopan v manjšem deležu (36,0 %), torej znaša frekvenca neugodnega alela G slabi dve tretjini (64,1 %). Pri pasmi **slovenski veliki beli prašič** se pri 8 analiziranih vzorcih želeni alel A pojavlja v 75,0 %. Geraci in sod. (2019) so pri pasmi italijanski veliki beli prašič ugotovili, da je pogostnost alela A nizka (11,5 %). Frekvenca alela A je 29,4 % pri svinjah **hibrida 12** (tabela 1), kar je skladno s frekvenco starševskih pasem.

Pri maternalnih pasmah lahko le za slovenski landras rečemo, da je želeni alel prisoten v tolikšnem obsegu in bi lahko izvajali odbiro živali tudi na odpornost na seve *E. coli* F18. Pri maternalnih pasmah želimo povečati odpornost tudi z oplemenjevanjem čistopasemskih populacij s semenom iz Švice, kjer že dalj časa izvajajo selekcijo na odpornost. Težava je v tem, da imamo majhne populacije maternalnih pasem in izredno slabo strukturo fenotipskih podatkov o prireji, pri čemer se pojavnosti drisk niti ne beleži. Tako imamo razmeroma malo podatkov v čistopasemskih populacijah maternalnih pasem, kjer imamo več genotipiziranih prašičev, pri hibridih je podatkov več, a nimamo odvzetih vzorcev tkiv, ki bi jih lahko genotipizirali. Za uspešno selekcijsko delo v prihodnje bi tako potrebovali več podatkov in več zbranih vzorcev za genotipizacijo.

Tabela 1: Frekvence genotipov in alelov za gen FUT1 po pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	AA		AG		GG		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	A	G
11	185	16	8.7	101	54.6	68	36.8	36.0	64.1
22	8	5	62.5	2	25.0	1	12.5	75.0	25.0
33	15	0	0.0	0	0.0	15	100.0	0.0	100.0
44	149	3	2.0	35	23.5	111	74.5	13.8	86.2
55	88	8	9.1	13	14.8	67	76.1	16.5	83.5
88	308	82	26.6	168	54.6	58	18.8	53.9	46.1
Skupaj	753	114	15.1	319	42.4	320	42.5	36.3	63.7
Hibridi									
12	17	1	5.9	8	47.1	8	47.1	29.4	70.6
54	40	0	0.0	8	20.0	32	80.0	10.0	90.0
Maternalni genotipi									
Skupaj	210	22	10.5	111	52.9	77	36.7	36.9	63.1
Terminalni genotipi									
Skupaj	292	11	3.8	56	19.2	225	77.1	13.4	86.6



Slika 1: Poodstavitvena driska pri tekačih, ki bi jo rejci radi imeli pod kontrolo

Pri pasmi **durok** je bilo uspešno prebranih le 15 genotipov (tabela 1) in vsi so bili genotipa GG. Frekvenca alela A je znašala skromnih 13,8 % pri pasmi **pietren** (149 vzorcev) in 16,5 % pri pasmi **slovenski mesnati landras** (88 vzorcev). Pri **hibridu 54** se frekvenca opaženih genotipov ne sklada s pričakovanimi frekvencami na osnovi frekvenc genotipov starševskih pasem pietren in slovenski mesnati landras, vendar vzorec ni velik (40 živali, tabela 1). Po pričakovanjih prevladujejo genotipi GG (80,0 %).

V naših populacijah terminalnih genotipov je frekvenca zaželenega alela A razmeroma nizka, posledično bomo pri terminalnih pasmah samo z odbiro težko na kratek rok znatno povečali frekvenco genotipov AA. Da bi dobili odpornejše komercialne pitance bi morali le-ti biti homozigoti AA na tem SNP-u v genu FUT1. Tako se je najbolje v prvi vrsti posvetiti oskrbi sesnih in odstavljenih pujskov. Pri selekciji pa moramo previdno favorizirati alel A.

V populaciji **krškopoljskih prašičev** imamo prebran genotip FUT1 pri 308 vzorcih. Frekvenca genotipa AA je 26,6 %, frekvenca genotipa AG 54,6 %, preostalih 18,8 % živali pa je genotipa GG (tabela 1). Glede na opažene frekvence genotipov znaša frekvenca alela A 53,9 % in je pri krškopoljskem prašiču znatno višja kot pri sodobnih pasmah. Pri italijanskih avtohtonih pasmah je frekvenca alela A zelo različna Geraci in sod. (2019), med 6,0 % pri pasmi apulo calabrese in 55,4 % pri pasmi casertana. Tudi Muñoz in sod. (2018) so pokazali veliko variabilnost med evropskimi avtohtonimi pasmami pri frekvenci alela A, ki imela razpon med 4 in 74 %. Pri vzorcu krškopoljskih prašičev, ki so bili vključeni v omenjeno študijo, je bila frekvenca alela A 71 %, kar je več kot v naši raziskavi, a zajeli so precej manjši vzorec.

6.3 Povezava med genoma MUC4 in FUT1

Gena MUC4 in FUT1 nista povezana samo z odpornostjo na okužbo z določnimi sevi *E. coli* in pojavom driske pri sesnih pujskih in tekačih, ampak vplivata tudi na črevesno homeostazo. Zdravi pujski z različnimi genotipi za MUC4 in FUT1 se razlikujejo po črevesnem mikrobnem profilu. Črevesna sluznica pujskov z občutljivima genotipoma CG in GG v genu MUC4 ima povečano regulacijo genov, povezanih z imunsko funkcijo, v primerjavi s pujski z odpornim genotipom CC (Luise in sod., 2019). Te razlike črevesne sluznice se lahko odražajo v razlikah v presnovi in prehranskih potrebah pujskov ter s tem vplivajo na priraste za MUC4 Fontanesi in sod. (2012) in za FUT1 Bao in sod. (2012). Zaenkrat pa so vplivi

genetskih različic za MUC4 in FUT1 na črevesno homeostazo in mikrobní profil pri zdravih pujskih še slabo raziskani.

Poglavje 7

Gen LEP

Gen LEP je gen s številnimi učinki na prirejo, saj igra pomembno vlogo pri presnovi. Znan je bil tudi po vzdevku „gen debelosti“ in naveden tudi pod oznakama OB in OBS, ki sta izhajata iz angleškega izraza za “debelost”. Primerjalne študije so pokazale veliko podobnost med sekvencami DNA pri prašičih, ljudeh in miših. Ta podobnost med sesalci napeljuje na dejstvo, da se je struktura gena LEP skozi evolucijo izkazala kot precej stabilna.

Prepoznani polimorfizmi v genu LEP bi lahko bili potencialni označevalci za piktovne in klavne lastnosti. Lastnosti rasti so regulirane s strani številnih okoljskih dejavnikov in številnih genov, zato je njihov učinek težko določiti. Navedbe v literaturi (Robert in sod., 1998; Barb in sod., 1998) kažejo na to, da ima gen LEP pri prašičih pomemben vpliv na regulacijo rasti, zamaščenost in sestavo telesa. Tradicionalne metode selekcije pri prašičih so bile za te lastnosti uspešne, uporaba genomske informacije pa bi lahko učinke selekcije še izboljšala. Pred vključitvijo genov pri odbiru pa je potrebno poznati prispevek različic tega gena za lastnosti prireje v posameznih populacijah.

7.1 Kratek povzetek literature

Gen LEP se pri prašičih nahaja na kromosomu 18 (Neuenschwander in sod., 1996). Pri prašičih ta gen sestavljajo trije eksoni in dva introna (Bidwell in sod., 1997). Kodirajoča regija je oblikovana na drugem in tretjem eksonu. Gen LEP kodira beljakovino leptin (Campfield in sod., 1995), hormon, ki uravnava metabolizem, ješčnost in porabo energije pri živalih in ljudeh.

Hormon leptin (LEP) je beljakovina, ki nastaja in se izloča skoraj izključno iz adipocitov (maščobnih celic). Deluje kot signal sitosti preko hipotalamusa, s čimer uravnava metabolizem energije in nadzoruje telesno maso (Barb in sod., 2001). Leptin lahko neposredno učinkuje na rast in sestavo telesa preko fizioloških in endokrinih mehanizmov.

Poročajo o okrog 400 različicah gena LEP (Bidwell in sod., 1997; Pérez-Montarelo in sod., 2012). Nekaj težav povzroča zelo različna nomenklatura različic na posameznih SNP-ih. Različice v genu LEP so povezane s številnimi fenotipskimi lastnostmi pri prašičih, vključno s hitrostjo rasti, telesno maso (Kenes in sod., 2001), vsebnostjo maščobe in kakovostjo mesa (De Oliveira Peixoto in sod., 2006). Na primer, različici A2845T in T3469C lahko vplivata na ješčnost in metabolizem, kar lahko posledično vpliva na telesno maso in sestavo telesa prašičev. Ramsay in sod. (1998) navajajo, da je nivo leptina v krvnem serumu pri zamaščenih hibridnih prašičih 3-krat višji kot pri nezamaščenih sovrstnikih. Za različico g.3469 T>C so (Villalba in sod., 2009) ugotovili, da je učinek odvisen od starosti živali. Pri številnih različicah v genu LEP niso našli vzročnih povezav s spremembami pri fenotipskih vrednostih za lastnosti prireje, so pa lahko označevalci za gen LEP in druge gene v bližini gena LEP. Tako je lahko gen LEP pomemben genetski označevalec za izboljšanje lastnosti mesa pri prašičih. Prisotnost receptorjev za leptin v jajčnikih, testisih in maternici nakazuje možnost, da

gen vpliva tudi na plodnost pri prašičih, a v raziskavi Terman (2005) povezave ni potrdil.

Najbolj pogosto proučevana je različica g.3469 T>C v eksonu 3 v genu LEP, ki so jo med prvimi opisali Stratil in sod. (1997). Pri vseh pasmah je bil alel G bolj pogost razen pri pasmi meishan, kjer alela T niso našli. Jiang in Gibson (1999) sta proučevala štiri različice, in sicer 867 C>T, 1112 A>G, g.3469 T>C in 3714 G>T, pri pasmah durok, hampšir, landras, large white in erhulian. V ukrajinski študiji pri pasmi large white (Balatsky in sod., 2018) niso našli povezave SNP-a g.2845 A>T v genu LEP s hitrostjo rasti in debelino slanine, kar se razlikuje od kanadskih rezultatov (Kennes in sod., 2001) pri pasmi landras, v kateri pa so potrdili vpliv te različice na skupno porabo krme in starost pri 100 kg, pri pasmi large white pa je bil alel T fiksiran. Dodatno so potrdili tudi vpliv različice g.3469 T>C na hitrost rasti pri pasmi landras. Pri kitajski avtohtoni pasmi lulai black in križancih jorkšir × landras so Liu in sod. (2011) pri različic 2863 G>A gena LEP navedli, da vpliva na regulacijo transkripcije leptina in ga izpostavili kot potencialnega DNA označevalca za debelino hrbtne slanine. Liu in sod. (2011) so v raziskavo vključili dodatno pasmi durok, jorkšir in še avtohtono pasmo laiwu. Alel A je bil pri obeh avtohtonih pasmah pogostejši kot pri sodobnih pasmah. Homozigotov AA niso našli pri nobeni od sodobnih pasem, pri križancih pa le 1 %.

Rezultati kažejo, da so lahko frekvence alelov med populacijami zelo različne in njihovi učinki specifični. To pa predvsem pomeni, da je potrebno pred uporabo genotipov pri selekciji v lastni populaciji predhodno proučiti in nato sproti preverjati povezavo med genotipi in fenotipskimi lastnostmi, pri katerih bi radi izvajali selekcijo na genotipe za gen LEP.

7.2 Stanje v naših populacijah

V naših genomskih informacijah proučujemo SNP rs344479998, ki se nahaja v intronski regiji gena LEP, pri kateri pride do zamenjave T>C. Povezave tega SNP s fenotipskimi lastnostmi v literaturi nismo zasledili. Tako ne moremo niti ugibati, kateremu alelu bi dali prednost, dokler ne dokažemo povezave s fenotipskimi meritvami v naših populacijah. Za gen LEP smo iz rezultatov genotipizacije lahko določili genotipe pri 534 prašičih.

Pri maternalni pasmi **slovenski landras** (116 vzorcev) prevladujejo homozigoti CC (93,1 %), heterozigotov TC je 6,9 %, medtem ko homozigotov TT pa nismo našli (tabela 1). Alel T je pri tej pasmi zelo redek, frekvenca znaša 3,5 %, prevladuje torej alel C. Pri pasmi **slovenski veliki beli prašič**, pri kateri imamo rezultate zgolj za 4 vzorce, so vsi prašiči genotipa CC (tabela 1). Pri maternalnem **hibridu 12** smo uspešno genotipizirali 17 vzorcev (tabela 1). Vse mladice hibrida 12 so imele na tem lokusu izključno alel C. Pričakovan delež homozigotov CC glede frekvenco alel v izvornih pasmah je tudi visok (96,5 %). Pričakovana frekvenca heterozigotov TC je samo 3,5 %, in sicer na račun nizke frekvence alela T (3,5 %) pri pasmi slovenski landras.

Pri pasmi **durok** (tabela 1) je bilo pri 12 uspešno genotipiziranih. Med temi vzorci je polovica homozigotov TT, tretjina heterozigotov TC in le pri dveh živalih (16,7 %) je bil določen homozigot CC. To je bila edina pasma v naši populaciji, kjer je bilo več alela T, in sicer dve tretjini, kot alela C, ki ga je samo ena tretjina.

Pri pasmi **pietren** je bilo med sodobnimi pasmami največ prebranih genotipov (124) za SNP rs344479998 gena LEP (tabela 1). Ta pasma ima najvišjo frekvenco homozigotov CC (96,0 %), le 4,0 % oz. 5 živali je bilo heterozigotov TC. Tako se alel T pri pasmi pietren pojavlja zelo redko (frekvenca 2,0 %).

Tabela 1: Frekvence genotipov in alelov za gen LEP po pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	TT		TC		CC		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	T	C
11	116	0	0.0	8	6.9	108	93.1	3.5	96.6
22	4	0	0.0	0	0.0	4	100.0	0.0	100.0
33	12	6	50.0	4	33.3	2	16.7	66.7	33.3
44	124	0	0.0	5	4.0	119	96.0	2.0	98.0
55	57	2	3.5	18	31.6	37	64.9	19.3	80.7
88	221	39	17.7	91	41.2	91	41.2	38.2	61.8
Skupaj	534	47	8.8	126	23.6	361	67.6	20.6	79.4
Hibridi									
12	17	0	0.0	0	0.0	17	100.0	0.0	100.0
54	26	1	3.9	5	19.2	20	76.9	13.5	86.5
Maternalni genotipi									
Skupaj	137	0	0.0	8	5.8	129	94.2	2.9	97.1
Terminalni genotipi									
Skupaj	219	9	4.1	32	14.6	178	81.3	11.4	88.6

Pri pasmi **slovenski mesnati landras** (tabela 1) se je med 57 prebranimi vzorci homozigot TT pojavil le pri 2 živalih, kar predstavlja 3,5 % uspešno genotipiziranih vzorcev. Homozigoti CC so predstavljali skoraj dve tretjini vzorcev (64,9 %), preostala tretjina pa so bili heterozigoti TC. Frekvenca alela C pri SNP-u rs344479998 v genu LEP je tako v populaciji ocenjena na okrog štiri petine.

Pri prašičih **hibrida 54** (tabela 1) je bilo uspešno genotipiziranih 26 vzorcev. Homozigoti CC so predstavljali 76,9 % vzorcev, 5 prašičev so bili heterozigoti TC, kar predstavlja slabo petino (19,2 %), le 1 žival (3,9 %) je bila homozigot TT. Glede na frekvenco alelov T in C pri izvornih pasmah je pričakovana frekvenca homozigotov CC 79,1 %, heterozigotov TC 20,6 % in le 0,3 % homozigotov TT. Pri tako majhnem številu analiziranih vzorcev lahko zaključimo, da so frekvence opaženih genotipov podobne pričakovanim frekvencam.

Pri vseh sodobnih pasmah in hibridih, razen pri pasmi durok, je pogostejši alel C za SNP-u rs344479998 v genu LEP in se pojavlja pri več kot 80 % prašičev. Frekvenca alela T v populaciji predstavlja le slabo petino. Rezultatov prireje za ta SNP v literaturi nismo zasledili. Alel C se pogosteje pojavlja pri maternalnih pasmah in pasmah, ki se hitreje zamastijo, zato bi bilo smiselno iskati morebitne povezave s plodnostjo ali zamaščenostjo v naših populacijah. Ker se nahaja SNP v nekodirajoči regiji, lahko služi kot označevalec za gen LEP.

Pri pasmi **krškopoljski prašič** imamo največ prebranih genotipov (221) za SNP rs344479998 v genu LEP (tabela 1). Enako zastopani so bili homozigoti CC in heterozigoti TC. Pri obeh genotipih je frekvenca znašala 41,2 %. Homozigotov TT na tem lokusu pa je bila le slaba petina. Tako je bilo pri proučevanih vzorcih frekvenca alela C skoraj dvakrat tolikšna kot frekvenca alela T. Frekvenca alela C je nižja (61,8 %) kot pri vzorcu krškopoljskih prašičev (77,0 %) v raziskavi Muñoz in sod. (2018).

Poglavje 8

Gen LEPR

Gen LEPR za leptinski receptor se pri prašičih nahaja na kromosomu 6 in kodira leptinski receptor, ki je ključen za regulacijo presnove in energetskega ravnovesja v organizmu (Campfield in sod., 1995). Povezujejo ga z vsebnostjo intramuskularne maščobe, debelino hrbtna slanine, rastjo in konformacijo trupa (Óvilo in sod., 2005; Galve in sod., 2012; Varona in sod., 2002; Óvilo in sod., 2000). Pri prašičih ima ta gen pomembno vlogo pri regulaciji telesne mase in rasti. LEPR se izraža v več izooblikah, ki nastanejo z alternativnim izrezovanjem mRNA in so porazdeljene v številnih tkivih. Glavna biološko aktivna izooblika je v veliki meri izražena v hipotalamusu (Óvilo in sod., 2010), delu možganov, ki igra ključno vlogo pri uravnavanju ješčnosti in energijskega ravnotežja.

8.1 Kratek povzetek literature

Pri genu LEPR v literaturi omenjajo številne SNP-e, ki se nahajajo na območjih, povezanih z regulacijo strukture in funkcije beljakovin. Povezave med SNP-i v genu LEPR in lastnostmi kakovosti mesa omenjajo pri pasmah durok, poljski landras (Mackowski in sod., 2005), križancih med pasmama landras in jorkšir, medtem ko pri prašičih pasme španski landras povezave niso potrdili (Amills in sod., 2008; Uemoto in sod., 2012; Kuehn in sod., 2008). Identificiranih je preko 25 SNP-ov v genu LEPR, nekateri od teh so povezani tudi s kakovostjo mesa pri posameznih pasmah (Li in sod., 2010; Uemoto in sod., 2012; Zhang in sod., 2014). Vendar pa trenutno ni podatkov o povezavah med SNP c232A>T v genu LEPR in ekonomsko pomembnimi lastnostmi pri pasmi veliki beli prašič. Poročali so, da je SNP c.2856C>T v genu LEPR povezan z vsebnostjo intramuskularne maščobe in vsebnostjo vode, okusom, nivojem holesterola, aromo, splošnim okusom in rezno trdoto mesa pri križancih med korejsko lokalno pasmo in jorkširjem (Liu in sod., 2010) ter pri kanadskih komercialnih križancih (Zhang in sod., 2014). V ukrajinski populaciji so za SNP c.2856C>T v genu LEPR ugotovili povezavo z lastnostmi prireje, pri SNP-u c.915C>T pa ne (Balatsky in sod., 2018).

Solé in sod. (2021) so proučili vpliv SNP-a z referenčno številko rs70959630 znotraj gena LEPR na telesno maso pri prašičih pasme durok. Ugotovili so antagonistične učinke gena LEPR med maternalnim in direktnim genetskim vplivom. Ob odstavitvi so bili pujski svinj, ki so bile homozigoti TT, lažji od pujskov, ki so bili potomci svinj z vsaj enim alelom C. Alel C pri materah torej ugodno vpliva na rast pujskov do odstavitve, kar bi lahko bilo posredno povezano z večjo količino proizvedenega mleka pri materah, ki so heterozigoti CT ali homozigoti CC. Prisotnost alela C pa upočasnjuje rast pri pitancih in ima neugoden učinek na maso klavnih polovic. Svinje z genotipom TT imajo negativen učinek na maso klavnih polovic pri svojih potomcih v podobnem obsegu, kot je ugoden direktni genetski učinek pri homozigotih TT. Kadar so bile matere in potomci istega genotipa, so se učinki tako izničili. Pitanci genotipa TT, ki so bili potomci svinj genotipa CT, so bili ob zakolu za 5 % težji kot prašiči genotipa CT, ki so bili potomci svinj genotipa TT. Suárez-Mesa in sod. (2023) so prav tako pri španski populaciji pasme durok ugo-

tavljali, da bi lahko bila boljša rast pri sesnih pujskih homozigotih TT povezana tudi z lastnostmi obnašanja: pujski so bili bolj vitalni in so tudi več počivali.

Eden izmed polimorfizmov v genu LEPR je SNP z referenčno številko rs709596309. Referenčni alel tega SNP-a je alel C, medtem ko je alel T alternativni alel. Alel T povezujejo z boljšo rastjo in večjo zamaščenostjo (Óvilo in sod., 2005). Óvilo in sod. (2010) pa dodajajo, da alel T vpliva na zmanjšanje izražanja mRNA gena LEPR v hipotalamusu. Muñoz in sod. (2011) so ugotovili, da pri križancih pasem durok in iberijski prašič alel T povezan s povečanjem telesne mase, debeline hrbtne slanine, deleža intramuskularne maščobe in vsebnost nasičenih maščobnih kislin ter zmanjšanjem enkrat nenasičenih (MUFA) in večkrat nenasičenih maščobnih kislin (PUFA).

8.2 Stanje v naših populacijah

V genu LEPR smo našli SNP z referenčno številko rs709596309, pri katerem je prepoznana zamenjava C>T. V vzorcu smo imeli 756 genotipiziranih prašičev, kjer je bil omenjeni SNP uspešno prebran.

Pri maternalni pasmi **slovenski landras** (185 vzorcev) je bil en prašič homozigot TT, štirje so bili heterozigoti CT, ostalih 97,3 % so bili homozigoti CC. Posledično je alel T zelo redek, saj frekvenca alela C znaša kar 98,4 %. Pri pasmi **slovenski veliki beli prašič** (8 vzorcev) smo genotip CC oz. CT našli pri 4 prašičih. Pri živalih **hibrida 12** (17 vzorcev) je bil prisoten le genotip CC. Pri maternalnih pasmah in hibridih je alel C zaželen in je v literaturi mnogokrat povezan z dobrimi maternalnimi lastnostmi. Zaželeni alel C je pri naših maternalnih pasmah in hibridih pogost (97,6 %). Da pa bi dobili več pitancev homozigotov TT, pa bi pri materah na osnovi literature (Solé in sod., 2021) predvsem iskali heterozigote CT. Genotip TT pa je bolj zaželen pri terminalnih pasmah.

Med terminalnimi pasmami so na proučevanem SNP-u gena LEPR vsi genotipizirani prašiči pasme **durok** (15 vzorcev) homozigoti CC. V španski populaciji pasme durok je bilo pri pujskih 19,6 % homozigotov CC, 46,6 % heterozigotov CT, ter 33,8 % homozigotov TT (Suárez-Mesa in sod., 2023). Razlike med špansko in našo populacijo pri frekvencah genotipov so znatne, a bi lahko bile tudi povsem slučajne zaradi majhnega števila pri nas genotipiziranih prašičev pasme durok. Možno pa je tudi, da je to posledica nabora mladic ob osnovanju naše sedanje populacije duroka.

Pri pasmi **pietren** je bilo med 148 genotipiziranimi prašiči 72,3 % homozigotov CC, 25,7 % heterozigotov CT in le trije (2,0 %) so bili homozigoti TT. Frekvenca alela C je visoka (85,1 %), pri terminalnih pasmah zaželeni alel T pa je razmeroma redek (14,9 %).

Pri prašičih pasme **slovenski mesnati landras**, pri kateri smo analizirali 92 vzorcev, je bila frekvenca homozigotov CC nekaj večja (77,2 %) kot pri pasmi pietren, genotip CT smo zaznali pri 11 prašičih, frekvenca heterozigotov CT pa je bila več kot za polovico manjša (12,0 %) kot pri pietrenu. Homozigoti TT so se v največjem deležu pojavili prav pri pasmi slovenski mesnati landras (10,9 %). Različno razmerje genotipov pa ni imelo izrazite razlike pri frekvenci alelov. Frekvenca alela C je bila visoka (83,2 %), alel T (16,9 %) pa se pojavlja nekoliko pogosteje

kot pri pasmi pietren. Alel T v raziskavah (Óvilo in sod., 2005) povezujejo z boljšo rastjo, večjo zamaščenostjo in boljšo kakovostjo mesa.

Tabela 1: Frekvence genotipov in alelov za SNP rs709596309 v genu LEPRpo pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	CC		CT		TT		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	C	T
11	185	180	97.3	4	2.2	1	0.5	98.4	1.6
22	8	4	50.0	4	50.0	0	0.0	75.0	25.0
33	15	15	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0
44	148	107	72.3	38	25.7	3	2.0	85.1	14.9
55	92	71	77.2	11	12.0	10	10.9	83.2	16.9
88	308	110	35.7	140	45.5	58	18.8	58.4	41.6
Skupaj	756	487	64.4	197	26.1	72	9.5	77.4	22.6
Hibridi									
12	17	17	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0
54	40	35	87.5	5	12.5	0	0.0	93.8	6.3
Maternalni genotipi									
Skupaj	210	201	95.7	8	3.8	1	0.5	97.6	2.4
Terminalni genotipi									
Skupaj	295	228	77.3	54	18.3	13	4.4	86.4	13.6

Pri **hibridu 54** (40 vzorcev) je bila opazovana frekvenca homozigotov CC 87,5 % in heterozigotov CT je 12,5 %, medtem ko homozigotov TT med genotipiziranimi ni bilo. Pričakovane frekvence genotipov pri hibridih smo določili na osnovi dobljenih frekvenc v genotipiziranih vzorcih izhodiščnih pasem. Tako bi pričakovali, da je homozigotov CC 70,8 %, heterozigotov CT 25,7 % in homozigotov TT 2,5 %. Opažena frekvenca homozigotov CC je nekoliko višja od pričakovane, predvsem na račun manjše opažene frekvence heterozigotov CT. Odstopanja med opazovanimi in pričakovanimi frekvencami so lahko tudi posledica tega, da nismo upoštevali spolov. Pri hibridih 54 bi lahko dosegli več homozigotov TT z asortitativnim parjenjem svinj pasme slovenski mesnati landras ki so nosilke alela T in merjascev pasme pietren, ki so homozigoti TT ali vsaj heterozigoti CT. Preden pa pri pasmah in hibridih sprejmemo kakršnokoli strategijo, pa bi kazalo preveriti povezave z lastnostmi prireje v naših populacijah tako maternalnih kot terminalnih pasem.

Pri **krškopoljskem prašiču** je frekvenca homozigotov CC v populacijah naših pasem najmanjša, in sicer je znašala le dobro tretjino (35,7 %, tabela 1). Frekvenca heterozigotov CT je bila 45,5 % in frekvenca homozigote TT 18,8 %. Bolj zastopan (58,4 %) je alel C kot alel T (41,6 %). Pričakovane frekvence genotipov na osnovi Hardy-Weinbergovega pravila so podobne opaženim frekvencam. Podobne frekvence so pri krškopoljskem prašiču ugotovili tudi Muñoz in sod. (2018), vendar so imeli le 36 vzorcev prašičev te pasme.

Pri pasmi krškopoljski prašič izvajamo le čistopasemska parjenja. Pri odbiri plemenskih mladice bi morda lahko v večji meri izbirali heterozigote CT, pri merjascih pa bi lahko upoštevali namen. Če bo rejec predvsem pital prašiče, bi bili bolj zaželeni homozigoti TT. Če pa bi vzrejal tudi plemenske mladice, pa bi kazalo ohranjati tudi alel C. Ker pa je to majhna populacija, je potrebno v prvi vrsti zagotoviti ohranjanje genetske variabilnosti in favoriziranje posameznih genotipov ali alelov pride bolj redko na vrsto. Poleg tega pa nimamo podatkov, da bi razlike med genotipi za SNP rs709596309 v genu LEPR preverili v populaciji krškopoljskega prašiča, ker nimamo na voljo fenotipskih podatkov.

Poglavje 9

Gen MTTP

Prehranska in organoleptična kakovost mesa in izdelkov iz prašičjega mesa je v veliki meri odvisna od maščobno kislinske sestave mesa in slanine. Ta je v precejšnji meri povezana s sestavo zaužite krme. Ker pa obstajajo tako razlike med pasmami kot tudi individualne razlike med živalmi, se raziskuje tudi morebitno genetsko ozadje (Renaville in sod., 2018).

9.1 Kratek pregled literature

Gen za mikrosomski trigliceridni prenosni protein (*ang. microsomal triglyceride transfer protein*, MTTP) se pri prašičih nahaja na kromosomu 8. Velja za kandidatni gen, ki igra ključno vlogo pri regulaciji presnove lipidov, sintezi nastajajočih lipoproteinov in vsebnosti maščobnih kislin (Estellé in sod., 2009). S sekvenciranjem kompletne kodirajoče regije tega gena so našli 16 različic.

S primerjanjem sekvenc različnih pasem je bil identificiran nesinonimni polimorfizem, ki se nahaja v eksonu 18 gena MTTP (c.2573T>C; p.Phe840Leu, rs335896411T>C). Asociacijske analize so v proučevanih populacijah pokazale močno povezanost tega polimorfizma z maščobno kislinsko sestavo maščobnega tkiva pri prašičih (Renaville in sod., 2018), in sicer veliko močnejšo od učinka QTL. Nedavna raziskava (Renaville in sod., 2015) je pokazala, da je omenjeni polimorfizem na SNP-lokusu gena MTTP vplival na maso klavnega trupa, izcejo med soljenjem, končni izplen pri izdelavi pršuta in rezo trdoto.

Poleg tega so testi aktivnosti in vitro v ekstraktih jetrnih beljakovin pokazali, da je ta mutacija povezana tudi z aktivnostjo proteina MTTP pri prenosu lipidov. Ti rezultati kažejo, da je omenjeni polimorfizem potencialni vzročni QTL za maščobno kislinsko sestavo maščobnih tkiv. Zdi se, da obstaja interakcija med genotipom gena MTTP in vrsto vira maščobe v krmi prašičev (Ropka-Molik in sod., 2016).

9.2 Stanje v naših populacijah

Tudi za SNP z referenčno številko rs335896411 v genu MTTP smo črpali genomске informacije na osnovi 757 analiziranih vzorcev.

Pri maternalni pasmi **slovenski landras** (tabela 1), pri kateri smo imeli na voljo 185 genotipiziranih vzorcev, se je homozigot CC pojavil pri 13,0 % prašičev. Heterozigotov GT pa je bila polovica, homozigoti TT so predstavljali 36,2 % vzorcev. Iz frekvenc genotipov smo izračunali, da je razmerje med alelom T in alelom C enako 3 : 2. Podobno razmerje alelov T in C so dobili tudi pri pasmi poljski landras (Ropka-Molik in sod., 2016), povezavo s kakovostjo mesa pa so v tej študiji potrdili pri poljskem velikem belem prašiču in njihovo pasmo puławski prašič. Pri pasmi **slovenski veliki beli prašič** imamo genotipiziranih le 8 prašičev. Polovica vzorcev je bilo heterozigotov CT in polovica homozigotov TT (tabela 1). Pri **maternalnih hibridih** imamo rezultate samo za 17 živali ženskega spola. Opažena frekvenca genotipa CC je 11,8 % in genotipa CT 29,4 %, preostali 58,8 % predstavljajo homozigoti TT.

Tabela 1: Frekvence genotipov in alelov za SNP rs335896411 v genu MTTP po pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	CC		CT		TT		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	C	T
11	185	24	13.0	94	50.8	67	36.2	38.4	61.6
22	8	0	0.0	4	50.0	4	50.0	25.0	75.0
33	15	14	93.3	1	6.7	0	0.0	96.7	3.3
44	148	46	31.1	64	43.2	38	25.7	52.7	47.3
55	90	1	1.1	18	20.0	71	78.9	11.1	88.9
88	311	62	19.9	160	51.5	89	28.6	45.7	54.3
Skupaj	757	147	19.4	341	45.0	269	35.5	41.9	58.1
Hibridi									
12	17	2	11.8	5	29.4	10	58.8	26.5	73.5
54	40	10	25.0	20	50.0	10	25.0	50.0	50.0
Maternalni genotipi									
Skupaj	210	26	12.4	103	49.0	81	38.6	36.9	63.1
Terminalni genotipi									
Skupaj	293	71	24.2	103	35.2	119	40.6	41.8	58.2

Pri pasmi **durok** imamo rezultate le za 15 prašičev. Med uspešno prebranimi genotipi je velika večina homozigotov CC (93,3 %) in in samo eden heterozigot CT. Pri pasmi **pietren** je za SNP rs335896411 prebranih 148 genotipov. Slaba tretjina (31,1 %) genotipiziranih prašičev pasme pietren so homozigoti CC, heterozigoti CT predstavljajo dobri dve petini (43,2 %) živali, četrtnina (25,7 %) živali pa so homozigoti TT. V pregledanem vzorcu sta alela C (52,7 %) in T (47,3 %) enakomerno zastopana. Pri pasmi **slovenski mesnati landras**, pri kateri imamo genotipiziranih 90 vzorcev, je bil prebran samo en homozigot CC, homozigotov TT je bilo štiri petine, 20 % pa je bilo heterozigotov CT (tabela 1). Frekvenca alelov C v populaciji je tako ocenjena na desetino.

Pri **hibridu 54** je bilo uspešno genotipiziranih 40 merjascev. Polovica prašičev je bila heterozigotov CT, homozigota sta bila enakomerno zastopana. Vsakega je bilo po 25 %. Posledično sta v populaciji enaki frekvenci alelov C in T, vsakega je polovica.

Pri **krškopoljskem prašiču** smo uspešno prebrali SNP rs335896411 pri največ (311) vzorcih tkiva. Petino (19,9 %) živali predstavljajo homozigoti CC, polovico (51,5 %) heterozigoti CT ter 28,6 % homozigoti TT. Nekoliko bolj je zastopan alel T, njegova frekvenca znaša 54,3 %, frekvenca alela C pa je 45,7 %.

Poglavje 10

Gen VRTN v slovenski populaciji prašičev

Pri prašičih je poznano, da imajo lahko različno število vretenc, večje število je zaželeno, saj imamo s tem daljše živali, pri pitancih je na ta račun več mesa iz najdaljše hrbtne mišice (*m. longissimus dorsi*), plemenske svinje pa imajo na ta račun v materničnih rogovih več prostora za zarodke, dodatno pa je lahko tudi par seskov več.

10.1 Kratek povzetek literature

Gen VRTN (vertnin) se nahaja na kromosomu 7 in je pomemben pri razvoju vretenc in reber pri prašičih (Fan in sod., 2013). Variacije v tem genu lahko vplivajo na število vretenc in s tem na morfologijo hrbtenice, kar posredno vpliva na velikost in dolžino trupa (Yang in sod., 2016), nima pa negativnih učinkov na kakovost mesa. Posledično vpliva tudi na število seskov in s tem na maternalne lastnosti (Park in sod., 2023). Fenotipske spremembe v številu vretenc, reber in posledično številu seskov povezujejo tudi z insercijo 291 baznih parov dolgega odseka v prvem intronu gena VRTN in mutacijo A v C v promotorski regiji gena. Spremembi sta oddaljeni le 1,2 kb parov, zato sta v neravnotežju zaradi vezave. Pričakovano je, da se zato dedujeta skupaj. Znale imamo informacije za SNP rs709317845, ki privede do zamenjave A>C. Sevillano in sod. (2022) navajajo, da je alel C zaželen in imajo svinje z genotipom CC v povprečju en funkcionalni sesek več kot svinje genotipa AA.

10.2 Stanje v naših populacijah

Pri maternalni pasmi **slovenski landras**, pri kateri je bilo genotipiziranih 181 vzorcev, so genotipi enakomerno zastopani, vsak po eno tretjino (tabela 1). Frekvenca alela A (49,7 %) je pravzaprav enaka frekvenci alela C (50,3 %). Pri pasmi **slovenski veliki beli prašič** imamo le 8 genotipiziranih živali, pri čemer je bilo tri četrtine genotipa AA, genotipa AC in CC pa sta se pojavila le po 1-krat. Frekvenca alela C je nizka, saj je zastopan le v 18,8 % primerih.

Pri **hibridu 12** (17 vzorcev) je opažena frekvenca homozigota AA 5,9 %, heterozigota AC 52,9 %, ostalo predstavlja homozigot CC. Pričakovana frekvenca genotipa AA je 40,4 %, genotipa AC 50,1 % in genotipa CC 9,5 %. Pričakovana in opažena frekvenca se nekoliko razlikujeta pri obeh homozigotih, pri heterozigotih pa ne, vendar 17 živali predstavlja majhen vzorec.

Zaželeni so homozigoti CC, pri katerih imajo svinje en funkcionalni sesek več kot svinje genotipa AA (Sevillano in sod., 2022). Ker je pri maternalnih hibridih število seskov izredno pomembno, bi bilo pri maternalnih pasmah zaželeno povečati frekvenco želenega alela C in tudi za vzrejo hibridnih mladice bi izbirali za starše nosilce alela C.

Tabela 1: Frekvence genotipov in alelov za SNP rs709317845 v genu VRTN po pasmah

Čistopasemski prašiči									
Pasma	N	AA		AC		CC		Frekvenca alela	
		N	%	N	%	N	%	A	C
11	181	60	33.2	60	33.2	61	33.7	49.7	50.3
22	8	6	75.0	1	12.5	1	12.5	81.3	18.8
33	15	0	0.0	10	66.7	5	33.3	33.3	66.7
44	147	25	17.0	77	52.4	45	30.6	43.2	56.8
55	91	10	11.0	22	24.2	59	64.8	23.1	76.9
88	306	97	31.7	143	46.7	66	21.6	55.1	44.9
Skupaj	748	198	26.5	313	41.8	237	31.7	47.4	52.6
Hibridi									
12	17	1	5.9	9	52.9	7	41.2	32.4	67.7
54	38	7	18.4	19	50.0	12	31.6	43.4	56.6
Maternalni genotipi									
Skupaj	206	67	32.5	70	34.0	69	33.5	49.5	50.5
Terminalni genotipi									
Skupaj	291	42	14.4	128	44.0	121	41.6	36.4	63.6

Pri prašičih pasme **durok** (tabela 1) nezaželenih homozigotov AA nismo zabeležili, a to je lahko tudi zaradi majhnega števila vzorcev tkiva, ki smo jih imeli na voljo. Pri 10 prašičih, kar predstavlja dve tretjini vzorcev, smo za SNP v genu VRTN prebrali heterozigote AC. Pri petih prašičih oz. tretjini vzorcev smo ugotovili genotip CC. Pri pasmi durok je ugodnejši alel C precej pogostejši (66,7 %) kot alel A (33,3 %).

Pri 147 genotipiziranih prašičih pasme **pietren** (tabela 1) so se zaželeni homozigoti CC pojavili pri slabi tretjini živali, heterozigoti AC pa pri polovici primerov. Manj ugodni homozigoti AA so se pojavili pri 17,0 % prašičev. Frekvenca alela C je sicer nekoliko manj pogosta (56,8 %) kot pri pasmi durok, zato pa je bolj pogost alel A (43,2 %). Prašičev pasme pietren ne vzrejamo z namenom, da bi dobili dobre matere z odličnimi materinskimi lastnostmi. Pitancem naj bi izboljšali predvsem mesnatost. Pomembnejša kot dolžina telesa je širina hrbta in omišičenost stegen, zato ni velike želje, da bi pri pasmi podaljšali trup ali povečali število funkcionalnih seskov.

Pri pasmi **slovenski mesnati landras** (tabela 1) smo genotipizirali in uspešno določili SNP rs709317845 v genu VRTN pri 91 prašičih. Homozigote CC smo pri tej naši pasmi določili kar pri slabih dveh tretjinah prašičev, le 10 prašičev na tem SNP-u je homozigotov AA. Heterozigote AC smo prebrali pri četrtini prašičev. Frekvenca zaželenega alela C znaša 76,9 %. Pasma slovenski mesnati landras je med terminalnimi pasmami, ki jih uporabljamo v Sloveniji, tudi najbolj plodna. Tudi zato je število seskov vseeno pomembno, čeprav so pragovi za število

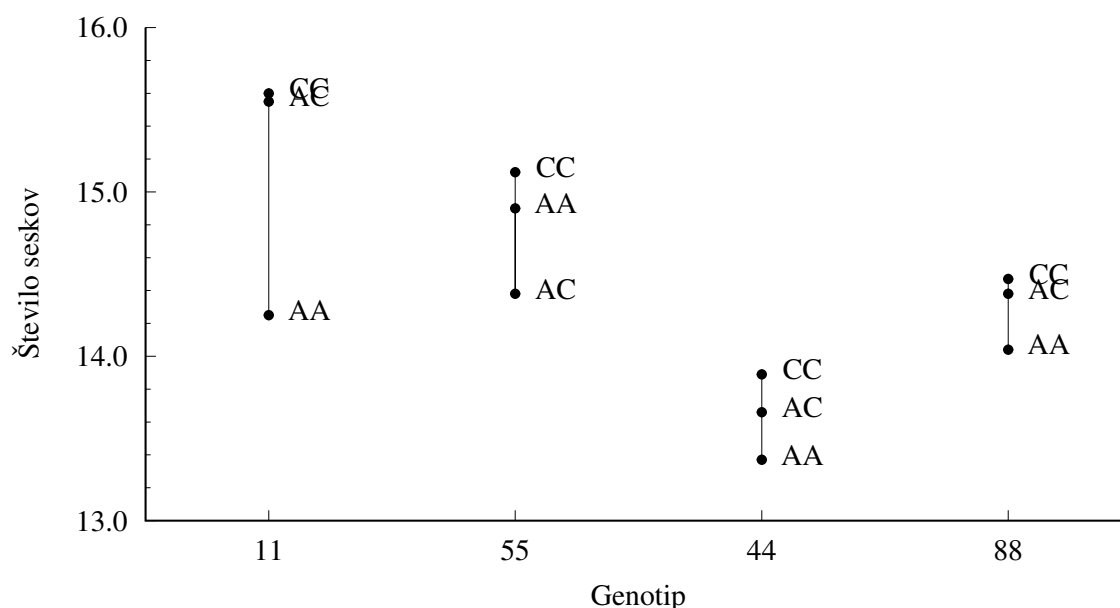
funkcionalnih seskov pri odbiri nekoliko nižji kot pri maternalni pasmi slovenski landras.

Pri merjascih **hibrida 54** (tabela 1) smo preverili 38 vzorcev. Homozigotov AA je bilo 18,4 %, heterozigotov AC polovico in slaba tretjina homozigotov CC. Glede na pogostnost alel pri izhodiščnih pasmah bi pričakovali 10,0 % homozigotov AA, 44,5 % heterozigotov AC pri ter 43,7 % homozigotov CC. Odstopanja med opaženimi in pričakovanimi frekvencami posameznih genotipov so razmeroma majhna, še zlasti ob majhnem številu opravljenih genotipizacij, na rezultat pa bi lahko vplivala tudi morebitna razlika v frekvenci alel med spoloma v izhodiščnih populacijah. Število seskov pri hibridu 54 pravzaprav ni pomembno, saj so vsi potomci namenjeni pitanju, mladice pa se ne odbira.

Največ genotipizacij smo izvedli (tabela 1) pri avtohtoni pasmi. Pri **krškopoljskem prašiču** je frekvenca genotipa AA 31,7 %, genotipa AC 46,7 %, ostalo (21,6 %) genotip CC. Frekvenca alelov A in C je pri pasmi krškopoljski prašič nekoliko manj izenačena kot pri pasmi slovenski landras. Tako je alela A 55,1 % in alela C 44,9 %. Ker so gnezda ob rojstvu manjša v primerjavi s sodobnimi maternalnimi pasmami, število funkcionalnih seskov pa pogosto presega velikost gnezda, tudi ne želimo izvajati intenzivne selekcije na število seskov. Več pozornosti bi kazalo posvetiti kakovosti vimena, za katero pa vemo, da je pri krškopoljskih svinjah problem.

10.3 Asociacijska analiza gena VRTN s številom funkcionalnih seskov

Število funkcionalnih seskov beležimo od leta 2008 dalje, kar nam je omogočilo preveritev povezave med genotipom pri genu VRTN in številom funkcionalnih seskov ob tetoviranju za živali z znanim fenotipom in genotipom. Večje število genotipiziranih živali za gen VRTN imamo pri pasmah slovenski landras, slovenski mesnati landras, pietren ter krškopoljski prašič (tabela 1). Tako smo v analizo lahko zajeli 353 prašičev sodobnih genotipov in 219 prašičev krškopoljske pasme, pri katerih imamo tako genotip za VRTN kot število seskov (t.j. fenotip), kar prikazujemo grafično. Pri vseh pasmah imajo homozigoti CC večje število funkcionalnih seskov (slika 1).



Slika 1: Povezava med številom funkcionalnih seskov in genotipom pri genu VRTN po pasmah

Pri pasmi **slovenski landras** je bilo pri genotipih CC in AC kar za 1,3 seska več kot pri homozigotih AA, pri **krškopoljskem prašiču** je razlika znašala samo 0,3 seska. Manjša razlika je lahko pasemsko pogojena, lahko pa je posledica manj zanesljivega preštevanja seskov pri posameznih rejcih. Pri teh dveh pasmah je število funkcionalnih seskov pri heterozigotu AC zelo blizu homozigotom CC, pri pasmi **pietren** pa so heterozigoti nekje na sredini med homozigotoma AA in CC. Tudi pri pasmi pietren znaša razlika med homozigotoma le 0,52 seska. Pri pasmi **slovenski mesnati landras** pa sta blizu rezultata za oba homozigota, nižje povprečje pa smo dobili pri heterozigotih AC. Po vsej verjetnosti je rezultat naključen, saj smo imeli v vzorcu genotipiziranih prašičev razmeroma malo opazovanj tako pri heterozigotih AC in homozigotih AA.

V analizo smo lahko zajeli 353 prašičev sodobnih genotipov in 219 prašičev krškopoljske pasme. Ko bo zbranih več podatkov moramo analizo ponoviti. Tudi v naših populacijah vidimo, da so lahko povezave med genom in opazovanimi lastnostmi specifične in jih je potrebno proučiti in kasneje spremljati učinke in spremembe. Rezultati nakazujejo, da bi lahko pri selekciji plemenskega podmladka poleg fenotipskih in plemenskih vrednosti za število funkcionalnih seskov favorizirali homozigote CC pri genu VRTN, vendar bi morali povečati obseg genotipizacije pri plemenskem podmladku.

Inbriding in sorodstvo z vključitvijo informacij genotipizacije¹

Upravljanje z genetsko pestrostjo populacije ima dve glavni nalogi. Prva je skrb za ohranjanje heterozigotnosti, s čimer preprečujemo tudi izgubo alelov na lokusih, za katere bomo morda v prihodnosti ugotovili, da so koristni, kot tudi depresijo zaradi inbridinga, ki bi lahko poslabšala lastnosti, ki so povezane predvsem s plodnostjo in preživetveno sposobnostjo. Druga naloga pa je izogibanje naključnemu genetskemu toku, ki bi lahko povzročil na eni strani, da bi se škodljivi recesivni aleli, ki imajo trenutno zelo nizko frekvenco, naključno zelo razširili, kar bi povzročilo slabše zdravstveno stanje in slabše preživetje, na drugi strani pa nepričakovano spreminjanje lastnosti prireje in funkcionalnih lastnosti. Genomske informacije, ki jih pridobimo z molekularnogenetskimi metodami, lahko uporabimo tudi za izračun različnih mer inbridinga in sorodstva med živalmi v populaciji. Raziskovalci tudi ugotavljajo, da je prav kombiniranje genomskih informacij z rodovniškimi informacijami najboljša pot pri upravljanju genetske pestrosti.

Namen prispevka je prikazati primerjavo med konvencionalno izračunanimi koeficienti inbridinga in sorodstva na osnovi rodovnikov ter koeficienti inbridinga in sorodstva, ki so izračunani na osnovi kombiniranja genomskih in rodovniških informacij.

11.1 Rodovnik oz. poreklo

Inbriding ali parjenje sorodnih osebkov je v diploidnih populacijah, ki so končno velike in zaprte, povsem naraven in pričakovani pojav. V bistvu se mu ne more izogniti nobena resnična populacija. Ko se parita osebka, ki imata enega ali več skupnih prednikov, obstaja verjetnost, da je potomec po obeh starših podedoval kopije alelov, za katere pravimo, da so identične po poreklu (ang. **identical by descent**, IBDs). Pri rejnih živalih smo živinorejci tako zaradi zbiranja podatkov o prireji pri živali in pri njenih sorodnikih kot tudi zaradi preprečevanja parjenja v sorodstvu pričeli voditi rodovniške knjige. V kateri koli rodovniški knjigi so na začetku vpisane živali brez poznanih prednikov. Zanje predpostavljamo, da so nesorodne. Kasnejši potomci imajo z vsako generacijo več znanih prednikov. Težava pa je, če se v rodovniku tudi v sedanjosti pojavljajo živali brez znanih staršev. V trenutno živeči populaciji krškopoljskih prašičev je med plemenskimi živalmi 31 takih, ki so brez znanih staršev ali starih staršev, kar predstavlja 7,4 %. Te živali imajo najnižjo vrednost za koeficient inbridinga (0,0084), izračunano na osnovi rodovnika, za razliko od ostalih, pri katerih povprečni koeficient inbridinga znaša 0,0619. Ker izvirajo iz iste populacije, ne morejo biti neinbridirane, pa tudi ne nesorodne z drugimi živalmi. Za živali z zelo veliko generacij poznane porenja pričakujemo, da bodo imele večji koeficient inbridinga. Trenutno živeče plemenske živali v populaciji krškopoljskih prašičev, ki imajo poznanih 6 ali več generacij prednikov, imajo koeficient inbridinga 0,0653. Veliko bolj kot v naprej postavljene meje za

¹ financiranje v okviru Programov za izvedbo skupnega temeljnega rejskega programa na področju govedoreje, reje drobnice, prašičereje in konjereje za leto 2024 (POGODBA št. 2330-24-000135)

koeficient inbridinga je pomembno nadziranje stopnje inbridinga v populaciji ter preprečevanje nastanka t.i. bližnjega inbridinga, ki je posledica parjenja bližnjih sorodnikov. Bližnji inbriding je tisti, ki najbolj prispeva k pojavu ali povečanju depresije zaradi inbridinga, stopnja inbridinga pa vpliva na izgubo heterozigotnosti in genetske variabilnosti.

11.2 Kratka predstavitev SNP-ov in genotipizacije s SNP-čipi

Celice živih organizmov vsebujejo dedni material v obliki molekul DNA. DNA je dolgoverižna molekula, ki jo tvorita dve nasprotnosmerno potekajoči verigi, ki se združujeta po načelu komplementarnosti baz svojih osnovnih gradnikov, ki so nukleotidi. Nukleotid, ki vsebuje bazo adenin (A), je skupaj v paru z nukleotidom, ki vsebuje bazo timin (T), podobno sta par nukleotida z bazama gvanin (G) in citozin (C). Pri podvajanju ali prenavljanju DNA se lahko zgodijo napake, npr. namesto nukleotida s citozinom se bo vgradil nukleotida s timinom, kar bo imelo za posledico, da bo namesto para nukleotidov C-G na določenem mestu v DNA sedaj par T-A. Taka sprememba nukleotidnega para lahko povzroči spremembo aminokislin v beljakovini, kar pa ima lahko za posledico spremembo v strukturi beljakovine. Večina tovrstnih zamenjav v DNA ni pomembnih, saj se zgodijo v telesnih celicah in se ne prenašajo na potomce.

Tovrstna sprememba je točkovna mutacija in jo poimenujemo polimorfizem posameznega nukleotid (ang. **s**ingle **n**ucleotide **p**olymorphism) ali na kratko SNP (kar se izgovori kot „snip“). Za SNP se smatra polimorfizem na določenem mestu v genomu, kadar se druga (manj pogosta) različica pojavlja vsaj pri 1 % populacije. V genomu so SNP-i na približno vsakih tisoč nukleotidov, kar pomeni, da je pri prašiču, ki ima genom podobne velikosti kot človek (2,7 milijard baznih parov), okrog 3 milijone SNP-ov.

SNP-i se pogosteje pojavljajo v nekodirajočih regijah genoma kot v regijah, kjer se nahajajo geni, ali v regulatornih regijah. SNP-i znotraj gena ali v regulatorni regiji določenega gena lahko vplivajo na funkcionalnosti in/ali izražanje gena in posledično na določeno lastnost ali lastnosti. Večina SNP-ov direktno ne vpliva na lastnosti, se jih pa zaradi svoje razširjenosti v genomu uporablja kot genetske označevalce, s katerimi prepoznavamo gene, ki so povezani z lastnostmi prireje ali boleznimi, ki imajo močno genetsko ozadje (t.j. monogenetske lastnosti). SNP-i, podobno kot prstni odtisi, enolično določajo osebk. Ker pa osebek po polovico svojega genetskega zapisa prejme od vsakega od staršev, se SNP-e lahko uporabi tudi za preverjanje porekla.

V sedanjem času se med molekularnogenetskimi metodami za genotipizacijo pogosto uporabljajo SNP-čipi visoke gostote (ang. **h**igh-**d**ensity SNP chips, HD SNP chip). To, da se imenujejo SNP-čipi visoke gostote, pomeni, da zajamejo več 10 tisoč SNP-ov. SNP-čipi so podvrsta DNA mikromrež oz. DNA čipov, ki so zbirka zaporedij nukleotidov, pritrjena na nosilec, ki omogoča hkratno analizo lokusov na ravni celotnega genoma, bodisi za namen analize vzorcev izražanja genov ali genotipizacije, kot tudi še kaj dodatnega. Pri genotipiziranju s SNP-čipi ugotavljamo, katere alele ima osebek na vsakem od teh več 10 tisoč lokusov. Zaporedja nukleotidov so alel-specifične oligonukleotidne sonde, ki so enoverižne krajše verige DNA ali RNKv obliki zanke, dolge do 20 nukleotidov, ki imajo v srednjem

delu tarčno zaporednje nukleotidov. Na sondu je pritrjeno fluorescentno barvilo, ki v primeru, da je prišlo do hibridizacije odseka DNA iz našega vzorca z DNA sonde, fluorescira. Sistem za zaznavanje potem beleži in interpretira hibridizacijski signal. Za vsako mesto SNP-a sta potrebni dve sondi za odkrivanje obeh alelov. V primeru, da bi bila samo ena sonda na SNP, ne bi bilo možno razlikovati med homozigotnim stanjem neiskanega alela in napačnim signalom. Nabor SNP-ov na čipu je izbran na osnovi reprezentativnega vzorca genomov, pri prašičih so SNP-čipi bolj prilagojeni sodobnim pasmam kot pa avtohtonim pasmam.

Na osnovi genotipizacije s SNP-čipom po interpretaciji hibridizacijskega signala s pomočjo temu namenjenih programskih orodij dobimo za posameznega prašiča približno 2,5 MB podatkov oz. dobrih 50.700 vrstic.

11.3 Kombinirana matrika sorodstva $\mathbf{H}$

S pomočjo matrike genomskega sorodstva $\mathbf{G}$ lahko izračunamo sorodstvo med živalmi, ki smo jih genotipizirali. Vedno pa imamo v populaciji določen del živali, za katere ali zgodovinsko nimamo vzorcev tkiva ali pa se iz finančnih razlogov nismo odločili, da jih bomo genotipizirali. Raziskovalci pa so razvili postopke, kako združimo informacije na osnovi rodovnika z informacijami iz genotipizacije. Matrika $\mathbf{H}$ kombinira rodovniške informacije in informacije iz genotipizacije in je bila primarno razvita v namen nastavljanja in reševanja sistema enačb pri napovedovanju genomskega plemenskih vrednosti v ssGBLUP (Legarra in sod., 2009).

Matrika $\mathbf{H}$ je sestavljena iz štirih delov, pri tem je indeks 1 za živali brez genomske informacije, indeks 2 za živali z genomskimi informacijami. Enako je z indeksi pri matrikah $\mathbf{A}$, kjer so $\mathbf{A}_{11}$, $\mathbf{A}_{12}$, $\mathbf{A}_{21}$ in $\mathbf{A}_{22}$ matrike rodovniške sorodstva, $\mathbf{G}_w$ tehtana genomska matrika sorodstva, ki se izračuna kot $\mathbf{G}_w = (1 - w)\mathbf{G}^* + w\mathbf{A}_{22}$, kjer je w parameter, s pomočjo katerega damo relativno težo rodovniškim in genomskim informacijam. Matriko $\mathbf{G}^*$ dobimo s pomočjo $\mathbf{G}^* = a + b\mathbf{G}$, kjer je $\mathbf{G}$ matrika genomskega sorodstva med genotipiziranimi živalmi, parametra a in b pa se izračuna s pomočjo sistema dveh enačb z dvema neznankama, znani koeficienti pa so povprečja diagonalnih elementov matrik $\mathbf{G}$ in $\mathbf{A}_{22}$ ter povprečja izvendagonalnih elementov matrik $\mathbf{G}$ in $\mathbf{A}_{22}$ (glej, npr. Zhao in sod., 2023).

$$\mathbf{H} = \begin{bmatrix} \mathbf{H}_{11} & \mathbf{H}_{12} \\ \mathbf{H}_{21} & \mathbf{H}_{22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{A}_{11} + \mathbf{A}_{12}\mathbf{A}_{22}^{-1}(\mathbf{G}_w - \mathbf{A}_{22})\mathbf{A}_{22}^{-1} & \mathbf{A}_{12}\mathbf{A}_{22}^{-1}\mathbf{G}_w \\ \mathbf{G}_w\mathbf{A}_{22}\mathbf{A}_{21}^{-1} & \mathbf{G}_w \end{bmatrix}$$

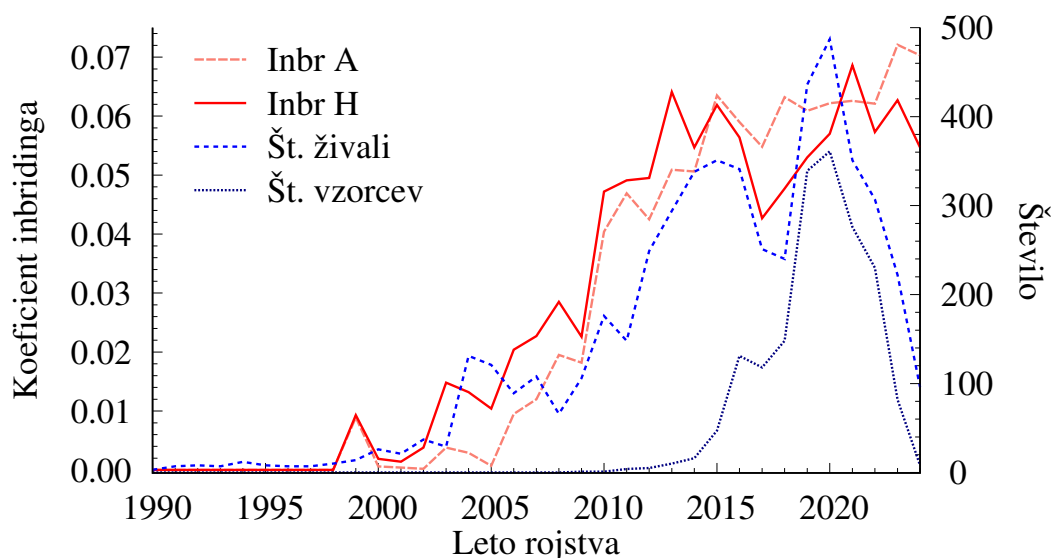
11.4 Material in metode

V raziskavo smo skupno zajeli 5104 živali iz rodovnika, med katerimi smo imeli 1777 genotipiziranih z zadosti veliko zanesljivostjo genotipizacije (nad 0,80). Med živalmi iz rodovnika je bilo 636 živečih, med temi pa je bili 334 genotipiziranih. Za pripravo podatkov v obliko, primerno za izračun matrike $\mathbf{H}$ smo uporabili lastne makroje, pripravljene v programu SAS (SAS Inst. Inc., 2012), ter Plink (Chang, 2020). Matriki $\mathbf{A}$ in $\mathbf{H}$ smo izračunali s pomočjo paketa PyAGH (Zhao in sod., 2023), napisanega v python-u, za preveritev smo matriko $\mathbf{A}$ izračunali še s pomočjo programa PEDIG (Boichard, 2002). Povprečno sorodstvo smo izračunali po

Dunner in sod. (1998), in sicer na osnovi koeficientov rodovniškega sorodstva iz matrike **A** ter na osnovi koeficientov rodovniško-genomskega sorodstva iz matrike **H**. Za pripravo in prikaz rezultatov pa smo uporabili lastne makroje, pripravljene v programu SAS, ter program Gnuplot (Williams in sod., 2019) za grafični prikaz.

11.5 Rezultati z diskusijo

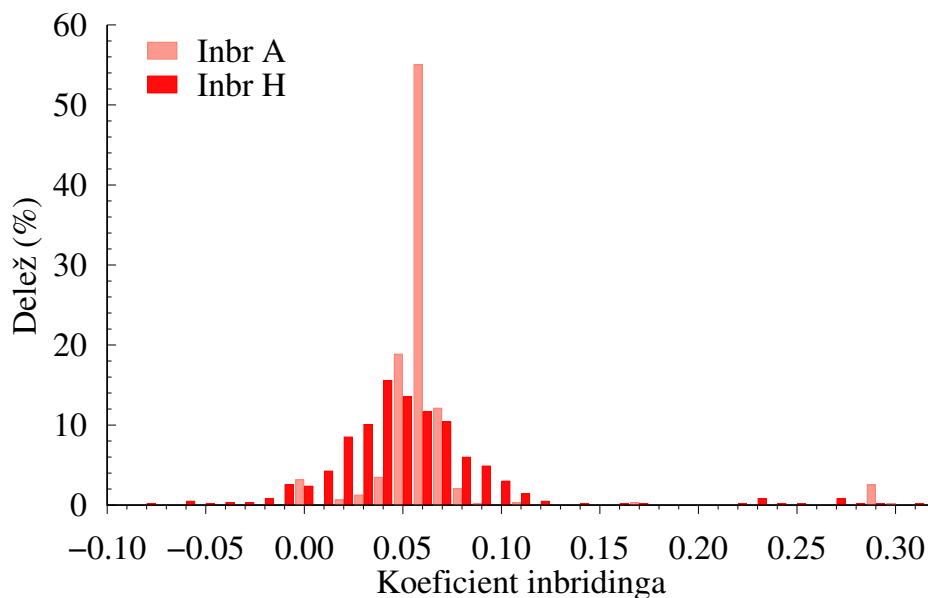
V zaprti populaciji prej ali slej pridemo do situacije, ko se med seboj pariyo sorodne živali, potomcem pa se iz generacije v generacijo povečuje koeficient inbridinga in s tem tudi povprečni koeficient inbridinga v populaciji. Koeficient inbridinga se po letih rojstva pričakovano povečuje (slika 1). Inbriding na osnovi rodovnika (svetlordeča črta) narašča od leta 2005 naprej, medtem ko inbriding na osnovi rodovniških in genomskih informacij (rdeča črta) prične naraščati nekaj let prej, vendar je njegovo naraščanje po letu 2015 počasnejše, pa tudi v zadnjih je povprečni koeficient inbridinga na osnovi rodovniških in genomskih informacij nekoliko manjši od povprečnega koeficienta inbridinga na osnovi rodovnika. Svetlejša modra črta kaže spreminjanje števila živali po letih rojstva, pri čemer je v letu 2020 precej velika vrednost (blizu 500 živali), predvsem na račun zajetih genotipiziranih živali, ki pa sicer niso bile uporabljene za razplod. Iz leta 2020 imamo tudi največ genotipiziranih vzorcev tkiva, žal pa za živali, rojene v letih 2023 (82 vzorcev) in 2024 (le 8 vzorcev) praktično nimamo genotipiziranih vzorcev.



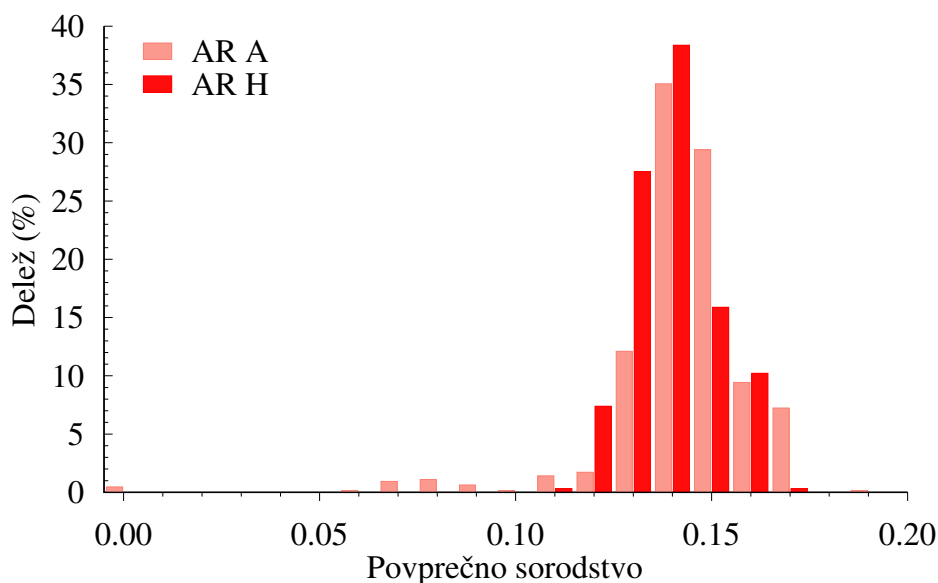
Slika 1: Koeficient inbridinga po letih rojstva (Inbr A - koeficient inbridinga na osnovi rodovniških informacij, Inbr H - koeficient inbridinga na osnovi rodovniških in genomskih informacij)

Živeča populacija ima povprečni inbriding na osnovi rodovnika 0.0632 ter 0.0528 na osnovi rodovnika in genotipizacije. Porazdelitev posamičnih koeficientov inbridinga za živečo populacijo (slika 2) - dobrih 600 živali - kaže precejšnjo razliko. Na osnovi matrike **A** (t.j. rodovnika, svetlordeča barva stolpcev) je pri večini živali koeficient inbridinga okrog 6,25 % (0,0625), medtem ko je v matriki **H** rodovnikom dodana informacija od genotipizacije (rdeča barva stolpcev) povzročila, da so koeficienti inbridinga bolj razpršeni, kar je tudi pričakovano. Koeficient inbridinga sicer pove, kako je posamezna žival inbridirana, ne pove pa sorodstva z

drugimi živalmi. Teoretično imamo lahko same močno inbridirane živali, pa so med seboj nesorodne, in v primeru, da jih parimo med seboj, bodo potomci ne-inbridirani. Zato se običajno bolj osredotočamo na to, kako sorodne so živali v živeči populaciji, ker je to pokazatelj, koliko inbridinga lahko pričakujemo v naslednji generaciji.



Slika 2: Porazdelitev za koefficient inbridinga pri živečih živalih (Inbr A - koefficient inbridinga na osnovi rodovniških informacij, Inbr H - koefficient inbridinga na osnovi rodovniških in genomskih informacij)



Slika 3: Porazdelitev za povprečno sorodstvo pri živečih živalih (AR A - povprečno sorodstvo na osnovi rodovniških informacij, AR H - povprečno sorodstvo na osnovi rodovniških in genomskih informacij)

Povprečno sorodstvo (ang. *average relationship*, AR) je zelo dober parameter za opis stanja v populaciji, saj meri, koliko je posamezna žival v povprečju sorodna

z vsemi ostalimi v (živeči) populaciji. Na osnovi povprečnega sorodstva lahko izbiramo živali, ki so v populaciji genetsko manj zastopane in s tem preprečujemo prehitro povečevanje koeficienta inbridinga in posledično tudi izgubljanje alel iz sklada genov populacije. Povprečje za povprečno sorodstvo na osnovi matrike **A** znaša 0,1427, na osnovi matrike **H** pa je nekoliko nižje in znaša 0,1395. Pri porazdelitvi za povprečno sorodstvo (slika 3) vidimo, da imamo na osnovi rodovnika (svetlordeča barva stolpcev) nekaj živali praktično nesorodnih z ostalimi v populaciji. To so živali, za katere smo ovrgli poreklo in sedaj preko porekla nimajo povezave z ostalo populacijo. Seveda pa ne morejo biti nesorodne - razen, če bi bile druge pasme - vendar pa vidimo, da takih na osnovi kombinacije rodovniških in genomskih informacij (rdeča barva stolpcev) ni. Povprečje za povprečno sorodstvo med živalmi v trenutni populaciji je na ravni sorodstva med bratranci in sestričnimi. Pa vendar to ni isto, kot če bi parili med seboj bratrance in sestrične. To sorodstvo je nastajalo počasi v več generacijah, podobno tudi inbriding pri posamičnih živalih. Pri tem počasnejšem nastajanju inbridinga je nevarnost, da se dva škodljiva alela srečata in povzročita težave v obliki depresije zaradi inbridinga bistveno manjša.

Kaj bi si veljalo zapomniti? Popolnejše, kot je poreklo, večji koeficient inbridinga na osnovi rodovnikov bomo izračunali za živali, razen v primeru, da kar pobrišemo starše. Pa vendar zaradi tega živali same ne bodo nič manj inbridirane ali. Sedanja populacija ima večinoma znanih vsaj 6 generacij prednikov, izjema so seveda živali z ovrženim svojim poreklom ali poreklom staršev. Dodatno pa ne obstaja arbitrarna vrednost za koeficient inbridinga, za katero bi lahko trdili, da se bodo pri njej pričele težave z depresijo zaradi inbridinga. Za populacijo ni tragedija, da ima neko vrednost za povprečni koeficient inbridinga, pa četudi leta presega 0,0625. Zares pomembno je, da se povprečje za koeficient inbridinga povečuje čim počasneje, kar pomeni, da moramo skrbeti, da med seboj ne parimo bližnjih sorodnikov in med njihovimi potomci odbiramo za razplod. To zagotavlja ohranjanje genetske variabilnosti in preprečuje nastanek težav zaradi depresije zaradi inbridinga.

Literatura

- Abella G., Pena R.N., Nogareda C., Armengol R., Vidal A., Moradell L., Tarancon V., Novell E., Estany J., Fraile L. 2016. A WUR SNP is associated with European porcine reproductive and respiratory virus syndrome resistance and growth performance in pigs. *Res. Vet. Sci.*, 104: 117–122
- Amills M., Villalba D., Tor M., Mercadé A., Gallardo D., Cabrera B., Jiménez N., Noguera J.L., Sánchez A., Estany J. 2008. Plasma leptin levels in pigs with different leptin and leptin receptor genotypes. *J. Anim. Breed. Genet.*, 125: 228–233
- Balatsky V., Oliinychenko Y., Sarantseva N., Getya A., Saienko A., Vovk V., Doran O. 2018. Association of single nucleotide polymorphisms in leptin (LEP) and leptin receptor (LEPR) genes with backfat thickness and daily weight gain in Ukrainian Large White pigs. *Livest. Sci.*, 217: 157–161
- Bao W.B., Wu S.L., Musa H.H., Zhu G.Q., Chen G.H. 2008. Genetic variation at the alpha-1-fucosyltransferase (FUT1) gene in Asian wild boar and Chinese and Western commercial pig breeds. *J. Anim. Breed. Genet.*, 125: 427–430
- Bao W.B., Ye L., Zhu J., Pan Z.Y., Zhu G.Q., Huang X.G., Wu S.L. 2012. Evaluation of M307 of FUT1 gene as a genetic marker for disease resistance breeding of Sutan pigs. *Mol. Bio. Rep.*, 39: 4223–4228
- Barb C.R., Hausman G.J., Houseknecht K.L. 2001. Biology of leptin in pig. *Domest. Anim. Endocrin.*, 21: 297–317
- Barb C.R., Yan X., Azain M.J., Kraeling R.R., Rampacek G.B., Ramsay T.G. 1998. Recombinant porcine leptin reduces feed intake and stimulates growth hormone secretion in swine. *Domest. Anim. Endocrin.*, 15: 77–86
- Bidwell C.A., Ji S., Frank G.R., Cornelius S.G., Willis G.M., Spurlock M.E. 1997. Cloning and expression of the porcine obese gene. *Anim. Biotechnol.*, 8: 191–206
- Boddicker N., Waide E.H., Rowland R.R.R., Lunney J.K., Garrick D.J., Reecy J.M., Dekkers J.C.M. 2012. Evidence for a major QTL associated with host response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge. *J. Anim. Sci.*, 90: 1733–1746
- Boichard D. 2002. PEDIG: a fortran package for pedigree analysis suited for large populations. V: Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, 2002-08-19/23, Vol. 32, str. 525–528. Castanet-Tolosan, INRA
- Børsting C., Morling N. 2013. Single-Nucleotide Polymorphisms. V: Encyclopedia of Forensic Sciences. 2nd ed. Siegel P.K., Sukko J.A., Houck M.M. (ur.). London, Academic Press: 233–238
- Brenig B., Brem G. 1992. Genomic organization and analysis of the 5' end of the porcine ryanodine receptor gene (*ryr1*). *FEBS Lett.*, 298: 277–279
- Campfield L.A., Smith F.J., Guisez Y., Devos R., Burn P. 1995. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*, 269: 546–549

- Chang C.C. 2020. Data Management and Summary Statistics with PLINK. New York, Springer US: 49–65
- Ciobanu D., Bastiaansen J., Malek M., Helm J., Woollard J., Plastow G., Rothschild M. 2001. Evidence for new alleles in the protein kinase adenosine monophosphate-activated γ 3-subunit gene associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality. *Genetics*, 159: 1151–1162
- Čechová M., Wolf J., Trčka P. 2007. Impact of RYR1 genotype of Piétrain boars on litter traits of Czech Large White x Czech Landrace crossbred sows. *J. Anim. Breed. Genet.*, 124: 86–93
- Davies W., Harbitz I., Fries R., Stranzinger G., Hauge J.G. 1988. Porcine malignant hyperthermia carrier detection and chromosomal assignment using a linked probe. *Anim. Genet.*, 19: 203–212
- De Oliveira Peixoto J., Facioni Guimarães S.E., Sávio Lopes P., Menck Soares M.A., Vieira Pires A., Gualberto Barbosa M.V., De Almeida Torres R., De Almeida e Silva M. 2006. Associations of leptin gene polymorphisms with production traits in pigs. *J. Anim. Breed. Genet.*, 123: 378–383
- de Vries A.G., Sosnicki A., Garnier J.P., Plastow G.S. 1998. The role of major genes and DNA technology in selection for meat quality in pigs. *Meat Sci.*, 49: S245–S255
- Duan H., Dong H., Wu S., Ren J., Zhang M., Chen C., Du Y., Zhang G., Zhang A. 2022. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus non-structural protein 4 cleaves guanylate-binding protein 1 via its cysteine proteinase activity to antagonize GBP1 antiviral effect. *Vet. Res.*, 53: 55
- Dunkelberger J.R., Mathur P.K., Lopes M.S., Knol E.F., Dekkers J.C.M. 2017. A major gene for host response to porcine reproductive and respiratory syndrome is not unfavorably associated with overall performance under nonchallenging conditions in commercial pig lines. *J. Anim. Sci.*, 95: 2838–2847
- Dunner S., Checa M.L., Gutiérrez J.P., Martín J.P., Cañón J. 1998. Genetic analysis and management in small populations: the Asturcon pony as an example. *Genet. Sel. Evol.*, 30: 397–405
- Enfält A.C., Lundström K., Hansson I., Johansen S., Nyström P.E. 1997. Comparison of non-carriers and heterozygous carriers of RN^- allele for carcass composition, muscle distribution and technological meat quality in Hampshire-sired pigs. *Livest. Prod. Sci.*, 47: 221–229
- Estellé J., Fernández A.I., Pérez-Enciso M., Fernández A., Rodríguez C., Sánchez A., Noguera J.L., Folch J.M. 2009. A non-synonymous mutation in a conserved site of the MTTP gene is strongly associated with protein activity and fatty acid profile in pigs. *Anim. Genet.*, 40: 813–820
- Fan Y., Xing Y., Zhang Z., Ai H., Ouyang Z., Ouyang J., Yang M., Li P., Chen Y., Gao J., Li L., Huang L., Ren J. 2013. A further look at porcine chromosome 7 reveals VRTN variants associated with vertebral number in Chinese and Western pigs. *PLoS ONE*, 8: e62534

- Fernandez X., Tornberg E., Naveau J., Talmant A., Monin G. 1992. Bimodal distribution of the muscle glycolytic potential in French and Swedish populations of hampshire crossbred pigs. *J. Sci. Food Agric.*, 59: 307–311
- Flisar T., Gorjanc G., Malovrh Š., Ule I., Kovač M. 2004. Genski test na sindrom maligne hipertermije. V: Spremljanje proizvodnosti prašičev, III. del. Kovač M., Malovrh Š. (ur.). Domžale, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Katedra za etologijo, biometrijo in selekcijo ter prašičerejo: 51–60
- Fontanesi L., Bertolini F., Dall'Olio S., Buttazzoni L., Gallo M., Russo V. 2012. Analysis of association between the MUC4 g.8227C>G polymorphism and production traits in Italian heavy pigs using a selective genotyping approach. *Anim. Biotechnol.*, 23: 147–155
- Fujii J., Otsu K., Zorzato F., de Leon S., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien P.J., MacLennan D.H. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253: 448–451
- Galve A., Burgos C., Silió L., Varona L., Rodríguez C., Ovilo C., López Buesa P. 2012. The effects of leptin receptor (LEPR) and melanocortin-4 receptor (MC4R) polymorphisms on fat content, fat distribution and fat composition in a Duroc x Landrace/Large White cross. *Livest. Sci.*, 145: 145–152
- Geraci C., Varzandi A.R., Schiavo G., Bovo S., Ribani A., Utzeri V.J., Galimberti G., Buttazzoni L., Ovilo O., Gallo M., Dall'Olio S., Fontanesi L. 2019. Genetic markers associated with resistance to infectious diseases have no effects on production traits and haematological parameters in Italian Large White pigs. *Livest. Sci.*, 223: 32–38
- Gol S., Estany L.J., Pena R.N. 2015. Expression profiling of the GBP1 gene as a candidate gene for porcine reproductive and respiratory syndrome resistance. *Anim. Genet.*, 46: 599–606
- Hamilton D.N., Ellis M., Miller K.D., McKeith F.K., Parrett D.F. 2000. The effect of the Halothane and Rendement Napole genes on carcass and meat quality characteristics of pigs. *J. Anim. Sci.*, 78: 2862–2867
- Jeon J.T., Amarger V., Rogel-Gaillard C., Robic A., Bongcam-Rudloff E., Paul S., Looft C., Milan D., Chardon P., Andersson L. 2001. Comparative analysis of a BAC contig of the porcine RN region and the human transcript map: Implications for the cloning of trait loci. *Genomics*, 72: 297–303
- Jeon R.L., Cheng J., Putz A.M., Dong Q., Harding J.C.S., Dyck M.K., Plastow G.S., Fortin, F. Lunney J., Rowland R., PigGen Canada, Dekkers J.C.M. 2021. Effect of a genetic marker for the GBP5 gene on resilience to a polymicrobial natural disease challenge in pigs. *Livest. Sci.*, 244: 104399
- Jiang Z.H., Gibson J.P. 1999. Genetic polymorphisms in the leptin gene and their association with fatness in four pig breeds. *Mamm. Genome*, 10: 191–193
- Kennes Y.M., Murphy B.D., Pothier F., Palin M.F. 2001. Characterization of swine leptin (LEP) polymorphisms and their association with production traits. *Anim. Genet.*, 32: 215–218

- Khatun A., Nazki S., Jeong C.G., Gu S., Mattoo S.u.S., Lee S.I., Yang M.S., Lim B., Kim K.S., Kim B., Lee K.T., Park C.K., Lee S.M., Kim W.I. 2020. Effect of polymorphisms in porcine guanylate-binding proteins on host resistance to PRRSV infection in experimentally challenged pigs. *Vet. Res.*, 51: 14
- Koltes J.E., Fritz-Waters E., Easley C.J., Choi I., Bao H., Kommadath A., Serão N.V.L., Boddicker N.J., Abrams S.M., Schroyen M., Loyd H., Tuggle C.K., Plastow G.S., Guan L., Stothard P., Lunney J.K., Liu P., Carpenter S., Rowland R.R.R., Dekkers J.C.M., Reecy J.M. 2015. Identification of a putative quantitative trait nucleotide in guanylate binding protein 5 for host response to PRRS virus infection. *BMC Genetics*, 16: 412
- Krhlanko S., Ložar K., Kovač M., Malovrh Š. 2021. Mutacija na genu RYR1 v populaciji krškopoljskih prašičev. V: *Krškopoljski prašič - ohranjanje in odbira plemenskih živali*. Malovrh Š., Kovač M. (ur.). Domžale, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Enota za prašičerejo: 29–36
- Kuehn L.A., Nonneman D.J., Klindt J.M., Wise T.H. 2008. Genetic relationships of body composition, serum leptin, and age at puberty in gilts. *J. Anim. Sci.*, 87: 477–483
- Lahucky R., Christian L.L., Kovac L., Stalder K.J., Bauerovala M. 1997. Meat quality assessed ante- and post mortem by different ryanodine receptor gene status of pigs. *Meat Sci.*, 47: 277–285
- Le Roy P., Elsen J.M., Caritez J.C., Talmant A., Juin H., Sellier P., Monin G. 2000. Comparison between the three porcine RN genotypes for growth, carcass composition and meat quality traits. *Genet. Sel. Evol.*, 32: 165–186
- Lefaucheur L. 2001. Myofiber typing and pig meat production. *Slo. Vet. Res.*, 38: 5–28
- Legarra A., Aguilar I., Misztal I. 2009. A relationship matrix including full pedigree and genomic information. *J. Dairy Sci.*, 92: 4656–4663
- Li X., Kim S.W., Choi J.S., Lee Y.M., Lee C.K., Choi B.H., Kim T.H., Choi Y.I., Kim J.J., Kim K.S. 2010. Investigation of porcine FABP3 and LEPR gene polymorphisms and mRNA expression for variation in intramuscular fat content. *Mol. Bio. Rep.*, 37: 3931–3939
- Liu D., Hu Y., Yang X., Liu Y., Wei S., Jiang Y. 2011. Identification and genetic effects of a novel polymorphism in the distal promoter region of porcine leptin gene. *Mol. Bio. Rep.*, 38: 2051–2057
- Liu J., Garza J.C., Bronner J., Kim C.S., Zhang W., Lu X.Y. 2010. Acute administration of leptin produces anxiolytic-like effects: a comparison with fluoxetine. *Psychopharmacology*, 207: 535–545
- Luc D.D., Thinh N.H., Bo H.X., Vinh N.T., Manh T.X., Hung N.V., Ton V.D., Farnir F. 2020. Mutation c.307G>A in FUT1 gene has no effect on production performance of Yorkshire pigs in the tropics: the case of Vietnam. *Can. J. Anim. Sci.*, 100: 426–431
- Luise D., Motta V., Bertocchi M., Salvarani C., Clavanzani P., Fanelli F., Pagotto U., Bosi P., Trevisi P. 2019. Effect of mucine 4 and fucosyltransferase 1 genetic variants on gut homeostasis of growing healthy pigs. *J. Anim. Physiol. An. N.*, 103: 801–812

- Mackowski M., Szymoniak K., Szydlowski M., Kamyczek M., Eckert R., Rozycki M., Switonski M. 2005. Missense mutations in exon 4 of the porcine LEPR gene encoding extracellular domain and their association with fatness traits. *Anim. Genet.*, 36: 135–137
- Mariani P., Lundström K., Gustafsson U., Enfält A.C., Juneja R.K., Andersson L. 1996. A major locus (RN) affecting muscle glycogen content is located on pig chromosome 15. *Mamm. Genome*, 7: 52–54
- Martin F.J., Amode M.R., Aneja A., Austine-Orimoloye O., Azov A.G., Barnes I., Becker A., Bennett R., Berry A., Bhai J., Bhurji S.K., Bignell A., Boddu S., Lins P.R.B., Brooks L., Ramaraju S.B., Charkhchi M., Cockburn A., Fiorretto L.D.R., Davidson C., Dodiya K., Donaldson S., Houdaigui B.E., Naboulsi T.E., Fatima R., Giron C.G., Genez T., Ghattaoraya G.S., Martinez J.G., Guijarro C., Hardy M., Hollis Z., Hourlier T., Hunt T., Kay M., Kaykala V., Le T., Lemos D., Marques-Coelho D., Marugán J.C., Merino G.A., Mirabueno L.P., Mushtaq A., Hossain S.N., Ogeh D.N., Sakthivel M.P., Parker A., Perry M., Piližota I., Prosovetskaia I., Pérez-Silva J.G., Salam A.I.A., Saraiva-Agostinho N., Schuilenburg H., Sheppard D., Sinha S., Sipos B., Stark W., Steed E., Sukumaran R., Sumathipala D., Suner M.M., Surapaneni L., Sutinen K., Szpak M., Tricomi F.F., Urbina-Gómez D., Veidenberg A., Walsh T.A., Walts B., Wass E., Willhoft N., Allen J., Alvarez-Jarreta J., Chakiachvili M., Flint B., Giorgetti S., Haggerty L., Ilsley G.R., Loveland J.E., Moore B., Mudge J.M., Tate J., Thybert D., Trevanion S.J., Winterbottom A., Frankish A., Hunt S.E., Ruffier M., Cunningham F., Dyer S., Finn R.D., Howe K.L., Harrison P.W., Yates A.D., Flicek P. 2023. *Ensembl 2023*. *Nucleic Acids Res.*, 51: D933–D941
- Meijerink E., Fries R., Vögeli P., Masabanda J., Wigger G., Stricker C., Neuenschwander S., Bertschinger H.U., Stranzinger G. 1997. Two $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and Escherichia coli F18 receptor (ECF18R) loci. *Mamm. Genome*, 8: 736–741
- Milan D., Jeon J.T., Looft C., Amarger V., Robic A., Thelander M., Rogel-Gaillard C., Paul S., Iannuccelli N., Rask L., Ronne H., Lundström K., Reinsch N., Gellin J., Kalm E., Le Roy P., Chardon P., Andersson L. 2000. A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science*, 288: 1248–1251
- Milan D., Woloszy N., Yerle M., Le Roy P., Bonnet M., Riquet J., Lahbib-Mansais Y., Caritez J.C., Robic A., Sellier P., Elsen J.M., Gellin J. 1996. Accurate mapping of the "acid meat" RN gene on genetic and physical maps of pig chromosome 15. *Mamm. Genome*, 7: 47–51
- Monin G., Sellier P. 1985. Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post-mortem period: The case of the Hampshire breed. *Meat Sci.*, 13: 49–63
- Muñoz G., Alcázar E., Fernández A., Barragán C., Carrasco A., de Pedro E., Silió L., Sánchez J.L., Rodríguez M.C. 2011. Effects of porcine MC4R and LEPR polymorphisms, gender and Duroc sire line on economic traits in Duroc Iberian crossbred pigs. *Meat Sci.*, 88: 169–173
- Muñoz M., Bozzi R., García F., Núñez Y., Geraci C., Crovetto A., García-Casco J., Alves E., Škrlep M., Charneca R., Martins J.M., Quintanilla R., Tibau J., Kušec G., Djurkin-Kušec I., J. M.M., Riquet J., Estellè J., Zimmer C., Razmaite V., Araujo J.P., Radović Č., Savić R., Karolyi D., Gallo M., Čandek-Potokar M., Fontanesi L., Fernández A.I., Óvilo C.

2018. Diversity across major and candidate genes in European local pig breeds. *PLoS ONE*, 13: 1–30
- Nelsen C.J., Murtaugh M.P., Faaberg K.S. 1999. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus comparison: Divergent evolution on two continents. *J. Virol.*, 73: 270–280
- Neuenschwander S., Rettenberger G., Meijerink E., Jörg H., Stranzinger G. 1996. Partial characterization of porcine obesity gene (OBS) and its localization to chromosome 18 by somatic cell hybrids. *Anim. Genet.*, 27: 275–278
- Nürnberg K., Küchenmeister U., Jakstadt M., Ender K., Kuhn G., Nürnberg G., Grune T. 2002. Compositional changes in muscle of malignant hyperthermia-susceptible pigs due to postmortem alterations in lipid metabolism, lipid peroxidation and protein oxidation. *J. Food Compos. Anal.*, 15: 283–292
- Otto G., Roehe R., Looft H., Thoelking L., Knap P.W., Rothschild M.F., Plastow G.S., Kalm E. 2007. Associations of DNA markers with meat quality traits in pigs with emphasis on drip loss. *Meat Sci.*, 75: 185–195
- Óvilo C., Fernández A., Fernández A.I., Folch J.M., Varona L., Benítez R., Nuñez Y., Rodríguez C., Alves E., Silió L. 2010. Hypothalamic expression of porcine leptin receptor (LEPR), neuropeptide Y (NPY), and cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) genes is influenced by LEPR genotype. *Mamm. Genome*, 21: 583–591
- Óvilo C., Fernández A., Noguera J.L., Barragán C., Letón R., Rodríguez C., Mercadé A., Alves E., Folch J.M., Varona L., Toro M. 2005. Fine mapping of porcine chromosome 6 QTL and LEPR effects on body composition in multiple generations of an Iberian by Landrace intercross. *Genet. Res., Camb.*, 85: 57–67
- Óvilo C., Pérez-Enciso M., Carmen B., Clop A., Rodríguez C., Oliver M.A., Toro M.A., Noguera J.L. 2000. A QTL for intramuscular fat and backfat thickness is located on porcine Chromosome 6. *Mamm. Genome*, 11: 344–346
- Park J., Do K.T., Park K.D., Lee H.K. 2023. Genome-wide association study using a single-step approach for teat number in Duroc, Landrace and Yorkshire pigs in Korea. *Anim. Genet.*, 54: 743–751
- Pena R.N., Fernández C., Blasco-Felip M., Fraile L.J., Estany J. 2019. Genetic markers associated with field PRRSV-induced abortion rates. *Viruses*, 11: 706
- Pérez-Montarelo D., Fernández A., Folch J.M., Pena R.N., Óvilo C., Rodríguez C., Silió L., Fernández A.I. 2012. Joint effects of porcine leptin and leptin receptor polymorphisms on productivity and quality traits. *Anim. Genet.*, 43: 805–809
- Ramsay T.G., Yan X., Morrison C. 1998. The obesity gene in swine: sequence and expression of porcine leptin. *J. Anim. Sci.*, 76: 484–490
- Reinsch N., Looft C., Rudat I., Kalm E. 1997. The Kiel RN experiment: final porcine chromosome 15 mapping results. *J. Anim. Breed. Genet.*, 114: 133–142
- Renaville B., Bacciu N., Lanzoni M., Corazzin M., Piasentier E. 2015. Polymorphism of fat metabolism genes as candidate markers for meat quality and production traits in heavy pigs. *Meat Sci.*, 110: 220–223

- Renaville B., Bacciu N., Lanzoni M., Mossa F., Piasentier E. 2018. Association of single nucleotide polymorphisms in fat metabolism candidate genes with fatty acid profiles of muscle and subcutaneous fat in heavy pigs. *Meat Sci.*, 139: 220–227
- Robert C., Palin M.F., Coulombe N., Roberge C., Silversides F.G., Benkel B.F., McKay R.M., Pelletier G. 1998. Backfat thickness in pigs is positively associated with leptin mRNA levels. *Can. J. Anim. Sci.*, 78: 473–482
- Ropka-Molik K., Podstawski P., Piórkowska K., Tyra M. 2016. Association of gene coding for microsomal triglyceride transfer protein (MTP) and meat texture characteristic in pig. *Ann. Anim. Sci.*, 16: 721–729
- Rossow K.D. 1998. Porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Pathol.*, 35: 1–20
- SAS Inst. Inc. 2012. The SAS System for Linux, Release 9.4. Cary, NC
- Sellier P., Monin G. 1994. Genetics of pig meat quality: a review. *J. Muscle Foods*, 5: 187–219
- Sevillano C.A., Harlizius B., Derks M.F.L., S. L.M., van Son M., Knol E.F. 2022. Allele frequency differences at epistatic QTL explain different genetic trends in number of teats in two pig lines. V: Proceedings of 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP), 3. – 7. July 2022. Veerkamp R.F., de Haas Y. (ur.), str. 1876–1879. Wageningen Academic Publishers
- Solé E., Ros-Freixedes R., Tor M., Reixach J., Pena R.N., Estany J. 2021. Antagonistic maternal and direct effects of the leptin receptor gene on body weight in pigs. *PLoS ONE*, 16: e0246198
- Stratil A., Peelman L., Van Poucke M., Čepica S. 1997. A *Hinf*I PCR-RFLP at the porcine leptin (LEP) gene. *Anim. Genet.*, 28: 371–372
- Suárez-Mesa R., Ros-Freixedes R., Díaz M., Marsellés J., Pena R., Reixach J., Estany J. 2023. The leptin receptor gene affects piglet behavior and growth. *J. Anim. Sci.*, 101: 1–7
- Šalehar A., Kastelic M., Dovč P. 1994. Frekvenca gena in vpliv genotipa RYR1 na rast in sestavo telesa prašičev treh pasem. *Sodobno kmetijstvo. Priloga: Slovenska prašičereja IV*, 27: 304–306
- Škrlep M., Kavar T., Čandek-Potokar M. 2010. Comparison of PRKAG3 and RYR1 gene effect on carcass traits and meat quality in Slovenian commercial pigs. *Czech J. Anim. Sci.*, 55: 149–159
- Škrlep M., Kavar T., Santé-Lhoutellier V., Čandek Potokar M. 2009. Effect of I199V polymorphism on PRKAG3 gene on carcass and meat quality traits in Slovenian commercial pigs. *J. Muscle Foods*, 20: 367–376
- Terman A. 2005. Effect of the polymorphism of prolactin receptor (PRLR) and leptin (LEP) genes on litter size in Polish pigs. *J. Anim. Breed. Genet.*, 122: 400–404

- Toplak I., Rihtarič D., Hostnik P., Grom J., Štukelj M., Valenčak Z. 2012. Identification of a genetically diverse sequence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Slovenia and the impact on the sensitivity of four molecular tests. *J. Virol. Methods*, 179: 51–56
- Uemoto Y., Kikuchi T., Nakano H., Sato S., Shibata T., Kadowaki H., Katoh K., Kobayashi E., Suzuki K. 2012. Effects of porcine leptin receptor gene polymorphisms on backfat thickness, fat area ratios by image analysis, and serum leptin concentrations in a Duroc purebred population. *Anim. Sci. J.*, 83: 375–385
- Uimari P., Sironen A. 2014. A combination of two variants in PRKAG3 is needed for a positive effect on meat quality in pigs. *BMC Genetics*, 15: 29
- Valenčak Z. 2004. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in Slovenia: Evaluation of serology. *Slo. Vet. Res.*, 41: 99–101
- Varona L., Ovilo C., Clap A., Noguera J., Pérez-Enciso M., Coll A., Folch J., C. B., Toro M., Babot D., Sánchez A. 2002. QTL mapping for growth and carcass traits in an Iberian by Landrace pig intercross: Additive, dominant and epistatic effects. *Genet. Res., Camb.*, 80: 145–154
- Villalba D., Tor M., Vidal O., Bosch L., Reixach J., Amills M., Sánchez A., Estany J. 2009. An age-dependent association between a leptin C3469T single nucleotide polymorphism and intramuscular fat content in pigs. *Livest. Sci.*, 121: 335–338
- Wang S.J., Liu W.J., Yang L.G., Sargent C.A., Liu H.B., Wang C., Liu X.D., Zhao S.H., Affara N.A., Liang A.X., Zhang S.J. 2012. Effects of FUT1 gene mutation on resistance to infectious disease. *Mol. Bio. Rep.*, 39: 2805–2810
- Williams T., Kelley C., many others 2019. Gnuplot 5.2: an interactive plotting program. [urlhttp://gnuplot.sourceforge.net/](http://gnuplot.sourceforge.net/)
- Yang J., Huang L., Yang M., Fan Y., Li L., Fang S., Deng W., Cui L., Zhang Z., Ai H., Wu Z., Gao J., Ren J. 2016. Possible introgression of the VRTN mutation increasing vertebral number, carcass length and teat number from Chinese pigs into European pigs. *Sci. Rep.*, 6: 19240
- Zhang C.Y., Wang Z., Bruce H.L., Janz J., Goddard E., Moore S., Plastow G.S. 2014. Associations between single nucleotide polymorphisms in 33 candidate genes and meat quality traits in commercial pigs. *Anim. Genet.*, 45: 508–516
- Zhao W., Qadri Q.R., Zhang Z., Wang Z., Pan Y., Wang Q., Zhang Z. 2023. PyAGH: a python package to fast construct kinship matrices based on different levels of omic data. *BMC Bioinformatics*, 24: 1–12
- Zimmerman J., Benfield D., Christopher-Hennings J., Dee S., Stevenson G. 2011. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)
<http://www.extension.org/pages/27264/porcine-reproductive-and-respiratory-syndrome-prrs> (19.dec.2011)

2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 1 2 2 2 1 2 1 1 2 2 1 1 2
1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 1 2 1 2 2 1 1 1 2 1 1
1 2 1 2 1 2 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 1 2 2 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1
1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 1 2 2 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 1 2 1 2 1 2 2 1 1 2 2 1 1
2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 1 1 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 1 2 1 2 2 2 2 1 1 2 2 1 1
2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 1 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 1 2 2 1 2 1 2 1 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 1 1 2 2 1
2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 1 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 1 2 1 2 2 2 1 1 2 2
2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 1 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 1 2 1 1 2 2 1 1 1
2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 1 2 2 2 1 1 1 1 2 2 1 1 2
2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 1 1 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 1 2 2 2 1 2 1 1 2 2 1 1 2
2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 1 1 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 1 2 2 2 2 2 1 1 2 2 1 1 2
2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 2 2 1 1 2
1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 1 2 1 1 1 2 1 2 1 1 2 2 1 1 1
2 1 2 1 2 1 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 1 2 2 2 2 1 1 2 2 1
2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 1 1 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 1 2 1 2 2 2 1 2 2 1 1 2 2 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 2 2 2 2 1 2 2 1 1 2 2 1
2 1 2 1 2 1 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 2 1 2 1 2 1 1 2 1 2 1 2 2 2 2 1 1 2 2 1
2 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 2 1 2 1 1 2 2 1 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 2 2 2 2 1 1 1 2 2 1 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 1 2 2 2 1 1 1 1 2 2 1 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 2 1 2 1 0 0 1 2 2 2 1 2 1 1 2 2 1 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 1 2 2 2 1 1 1 1 2 2 1 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 1 2 2 2 1 2 1 1 2 2 1 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 2 1 2 1 2 1 2 2 2 2 1 2 1 2 1 0 0 1 2 2 2 1 2 1 1 2 2 1 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 1 2 1 2 1 2 2 1 1 2 2 1
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 1 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 2 2 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 1 1 1 1 2 2 1 1