

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Barbara SIVEC

**ANALIZA PODATKOV O TELESNIH MASAH IN KLAVNIH  
LASTNOSTIH PIŠČANCEV V DEVETIH GENERACIJAH  
NAKLJUČNIH PONAVLJAJOČIH KRIŽANJ**

DIPLOMSKO DELO  
Visokošolski strokovni študij

**ANALYSIS OF CHICKEN BODY WEIGHT AND CARCASS TRAITS  
IN NINE GENERATIONS OF RANDOM FULL SIB INTERCROSS  
LINE (FSIL) MATINGS**

GRADUATION THESIS  
Higher professional studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek visokošolskega študija kmetijstva – zootehniko. Naloga je bila opravljena na Katedri za genetiko, animalno biotehnologijo in imunologijo in na Katedri za govedorejo, konjerejo, rejo drobnice, perutninarstvo, akvakulturo, etologijo in sonaravno kmetijstvo.

Komisija za dodiplomski študij je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Simona Horvata in za somentorja as. dr. Dušana Terčiča.

Recenzentka: prof. dr. Antonija Holcman

Komisija za oceno in zagovor:

- Predsednik: doc. dr. Silvester ŽGUR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- Član: prof. dr. Simon HORVAT  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- Član: as. dr. Dušan TERČIČ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- Članica: prof. dr. Antonija HOLCMAN  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Barbara Sivec

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Vs
DK	UDK 636.5.082.2(043.2)=163.6
KG	perutnina/pitovni piščanci/telesna masa/klavne lastnosti/selekcija/križanje
KK	AGRIS L10/6100
AV	SIVEC, Barbara
SA	HORVAT, Simon (mentor)/TERČIČ, Dušan (somentor)
KZ	SI-1230 Domžale, Groblje 3
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
LI	2009
IN	ANALIZA PODATKOV O TELESNIH MASAH IN KLAJNIH LASTNOSTIH PIŠČANCEV V DEVETIH GENERACIJAH NAKLJUČNIH PONAVLJAJOČIH KRIŽANJ
TD	Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
OP	VIII, 56 str., 10 pregl., 13 sl., 43 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V diplomski nalogi so zbrane in ovrednotene meritve o telesnih masah in klavnih lastnosti piščancev, ki so bile opravljene v različnih generacijah modela ponavljajočih naključnih križanj. Telesna masa piščancev ob 55. dnevu starosti se je iz generacije v generacijo zmanjševala, kar gre najverjetneje pripisati parjenju v sorodstvu (inbridingu). V zadnji (F <sub>9</sub> ) generacij križanj se je kumulativni odstotek inbridinga gibal v mejah 78,0 do 94,2 %. Zaradi velikih pozitivnih fenotipskih korelacij med telesno maso živali pred zakolom in klavnimi lastnostmi so se tudi vrednosti za slednje s trajanjem poskusa zmanjševale. Največjo korelacijo s telesno maso živali pred zakolom je v F <sub>9</sub> generaciji kazala masa klavnega trupa (0,98-0,99), najmanjšo pa masa trebušne maščobe (0,53-0,55). Variabilnost večine telesnih mas in klavnih lastnosti izražena s koeficientom variabilnosti je bila večja v F <sub>7</sub> kot v F <sub>3</sub> oziroma v F <sub>4</sub> generaciji. V zadnji (F <sub>9</sub> ) generaciji smo izračunali statistično značilne recipročne učinke, katerih vzrok je lahko maternalni vpliv in/ali genetske razlike v mitohondrijski DNA. Z obdelavo podatkov fenotipskih meritev smo opravili enega od uvodnih korakov pri iskanju molekularno genetskih osnov za obravnavane kvantitativne lastnosti pri pitovnih piščancih.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs  
DC UDC 636.5.082.2(043.2)=163.6  
CX poultry/broilers/body weight/carcass traits/selection/crossing  
CC AGRIS L10/6100  
AU SIVEC, Barbara  
AA HORVAT, Simon (supervisor)/TERČIČ, Dušan (co-supervisor)  
PP SI-1230 Domžale, Groblje 3  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science  
PY 2009  
TI ANALYSIS OF CHICKEN BODY WEIGHT AND CARCASS TRAITS IN NINE GENERATIONS OF RANDOM FULL SIB INTERCROSS LINE (FSIL) MATINGS  
DT Graduation Thesis (Higher professional studies)  
NO VIII, 56 p., 10 tab., 13 fig., 43 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB In this graduation thesis we collected and evaluated measurements of body weight and carcass traits in chickens, recorded in different generations of the full sib intercross line (FSIL) crossing model. The average body weight of chickens at 55 days of age was decreasing from generation to generation, which can be attributed to inbreeding depression. A cumulative percent of inbreeding in the last (F<sub>9</sub>) generation was from 78.0 to 94.2 %. Carcass trait characteristics were also decreasing during the crossbreeding FSIL scheme, because of the large positive phenotypic correlation between the body weight at slaughter and carcass traits. The biggest correlation with the live body weight at slaughter in F<sub>9</sub> generation was determined for the whole carcass weight after slaughter (0.98-0.99), and the lowest for the abdominal fat weight (0.53-0.55). Variability of body weight and carcass traits expressed with the coefficient of variation was larger in F<sub>7</sub> than in F<sub>3</sub> or F<sub>4</sub> generation. In the last (F<sub>9</sub>) generation we detected a statistically significant reciprocal effect, which could be caused by the maternal effect and/or genetic differences in mitochondrial DNA. Our statistical analysis of phenotypic measurements in several generations of FSIL crosses represents the first essential step for further studies of molecular genetic basis for discussed quantitative traits in broiler chickens.

## KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key Words Documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>3</b>
2.1 RAZVOJ PERUTNINARSTVA IN GENETIKE V 20. STOLETJU	3
2.2 KVANTITATIVNE LASTNOSTI	4
2.3 RAZISKOVANJE MOLEKULARNIH OSNOV KVANTITATIVNIH LASTNOSTI	5
2.4 DOLOČITEV NUKLEOTIDNEGA ZAPOREDJA KOKOŠJEGA GENOMA	8
<b>2.4.1 Označevalci SNP (angl. Single nucleotide polymorphisms)</b>	<b>9</b>
2.5 UPORABNOST MOLEKULARNO GENETSKIH INFORMACIJ V INTENZIVNEM PERUTNINARSTVU	11
2.6 PRIHODNOST MOLEKULARNO-GENETSKIH TEHNIK V PERUTNINARSTVU	12
<b>2.6.1 Selekcija na nivoju genoma</b>	<b>12</b>
<b>2.6.2 Genetska modifikacija</b>	<b>13</b>
2.7 MODELI ZA ISKANJE KVANTITATIVNIH LOKUSOV V ŽIVINOREJI IN NJIHOVA POVEZAVA S SELEKCIJO, KI SE OPIRA NA OZNAČEVALCE (MAS- angl. <i>Marker Assisted Selection</i> )	14
2.8 RAZLIČNI TIPI NA OZNAČEVALCE OPRTE SELEKCIJE (MAS) PRI DOMAČIH ŽIVALIH	18
<b>2.8.1 Na gene oprta selekcija (angl. <i>Gene Assisted Selection-GAS</i>)</b>	<b>19</b>
<b>2.8.2 MAS osnovana na uporabi označevalcev, ki se nahajajo v neravnotežju vezave (LD-MAS)</b>	<b>20</b>

<b>2.8.3 MAS osnovana na uporabi označevalcev, ki se nahajajo v ravnotežju vezave (LE-MAS)</b>	20
<b>2.8.4 Učinkovitost MAS</b>	21
<b>2.9 OD ODKRITJA QTL DO GAS/LD-MAS: TEHNIKE NATANČNEJŠEGA KARTIRANJA</b>	21
<b>2.9.1 Ustvarjanje dodatnih rekombinacij – poskusna križanja</b>	22
<b>2.9.2 Raziskovanje zgodovinskih rekombinacij</b>	23
<b>2.9.3 Selektivno rekombinantno genotipiziranje</b>	24
<b>2.9.4 Kandidatni geni</b>	24
<b>2.10 OD ODKRITJA QTL DO LE-MAS</b>	25
<b>2.10.1 MAS znotraj poskusnih linij</b>	25
<b>2.10.2 Prenos rezultatov iz poskusnih križanj v komercialne populacije</b>	25
<b>2.10.3 Plejotropni in neaditivni učinki QTL</b>	26
<b>3 MATERIAL IN METODE</b>	27
<b>3.1 POSKUSNA POPULACIJA</b>	27
<b>3.2 MERITVE TELESNIH MAS IN KLAVNIH LASTNOSTI</b>	29
<b>3.3 OBDELAVA PODATKOV</b>	31
<b>4 REZULTATI IN RAZPRAVA</b>	32
<b>5 SKLEPI</b>	48
<b>6 POVZETEK</b>	49
<b>7 VIRI</b>	52
<b>ZAHVALA</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Spreminjanje telesnih mas živali pri 55. dnevu starosti po posameznih generacijah	34
Preglednica 2: Spreminjanje % inbridinga v posameznih generacijah paralele A	36
Preglednica 3: Spreminjanje % inbridinga v posameznih generacijah paralele B (družina B-1)	36
Preglednica 4: Spreminjanje % inbridinga v posameznih generacijah paralele B (družina B-2)	37
Preglednica 5: Odstotek inbridinga ( $\Delta F$ ) v posameznih generacijah in povprečje za vse generacije obeh paralel	37
Preglednica 6: Primerjava pitovnih in klavnih lastnosti petelinov med $F_3$ in $F_7$ generacijo modela križanj FSIL v paraleli A	40
Preglednica 7: Primerjava pitovnih in klavnih lastnosti petelinov med $F_4$ in $F_7$ generacijo modela križanj FSIL v paraleli B	41
Preglednica 8: Primerjava pitovnih in klavnih lastnosti med paralelama A in B v zadnji ( $F_9$ ) generaciji modela ponavljajočih naključnih križanj	45
Preglednica 9: Primerjava telesnih mas pri 55. dnevu starosti med paralelama A in B v $F_2$ in $F_9$ generaciji modela ponavljajočih naključnih križanj	46
Preglednica 10: Pearsonovi koeficienti korelacije <sup>1</sup> med telesno maso živali pri 82. dnevu starosti in nekaterimi klavnimi lastnostmi v $F_9$ generaciji	47

## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Dejavniki, ki vplivajo na kvantitativne lastnosti. Kvantitativne lastnosti določa delovanje genetskih dejavnikov (poligenov) in dejavnikov okolja (Terčič, 2009a)	6
Slika 2: Vezano dedovanje genetskega označevalca in QTL. Zelen pravokotnik na DNA vijačnici nakazuje na prisotnost želenega QTL (gena), ki se pojavlja v povezavi z dvema genetskima označevalcema (rdeči zastavici) (Genetic Marker, 2009)	6
Slika 3: Označevalci SNP – prikazana je točkovna mutacija med molekulo DNA št. 1 (CG) in molekulo DNA št. 2 (TA), ki je osnova za določanje polimorfizmov med osebki (Genealogical DNA test, 2009)	10
Slika 4: Poskusne populacije za kartiranje QTL pri govedu. A = model hčera, pri katerem se genotipsko in fenotipsko izrednotijo hčere določenega bika; B = model vnukinj, pri katerem se genotipizirajo sinovi bika, fenotipsko izrednotijo pa njegove vnukinje. Kvadrati predstavljajo moške, krogi pa ženske živali. Simboli za ne-genotipizirane živali so prečrtani (Masle, 2007: 94)	16
Slika 5: Selektivno genotipiziranje. Genotipiziramo le živali iz zgornjega in spodnjega »repa« porazdelitve lastnosti (Van Arendonk in Bovenhuis, 2003)	17
Slika 6: Vezavno ravnotežje (levo) in neravnotežje (desno) (Mackay, 2001: 11-20)	19
Slika 7: Napredujoče medsebojno križanje (Advanced Intercross Line, 2009)	22
Slika 8: Dvosmerna selekcija na telesno maso piščancev pri 8. tednih starosti (Terčič in sod., 2005: 1)	27
Slika 9: Model križanj FSIL. Z nadaljevanjem križanj se rekombinantni dogodki akumulirajo in okno okrog QTL se oži (Terčič, 2009b)	28
Slika 10: Potek križanj od začetne ( $F_0$ ) do končne ( $F_9$ ) generacije	30
Slika 11: Spreminjanje telesnih mas piščancev pri 55. dnevu starosti od $F_1$ do $F_9$ generacije	35
Slika 12: Parjenje v sorodstvu (inbridng) (Inbreeding Depression, 2009)	38
Slika 13: Genetski zdrs (drift) (Genetic Drift, 2009)	42



## 1 UVOD

Veliko gospodarsko pomembnih lastnosti pri perutnini (npr. nesnost, prirast, izkoriščanje krme, kakovost mesa in jajc, itn.) je kvantitativne narave, saj nanje vpliva večje število genov kot tudi okoljski dejavniki. Ker je zaradi dejavnikov okolja, ki vplivajo na fenotip živali, pogosto težko oceniti genotip na osnovi fenotipskih podatkov, si v selekciji živali pogosto želimo zanesljivih genotipskih informacij, ki bi nam omogočile pravilno odbiro živali glede na postavljen rejski cilj. Napredek na področju molekularne genetike je v zadnjih letih omogočil identifikacijo regij v genomu, tako imenovanih kvantitativnih lokusov (QTL-angl. *Quantitative Trait Loci*), kjer se nahaja eden ali več genov z vplivom na kvantitativno/e lastnost/i. Ker proteinskega produkta teh lokusov večinoma ne poznamo, se moramo pri njihovem iskanju zadovoljiti z označevalci, ki kažejo z vzročnim lokusom tesno vezavo. Med genetskim označevalcem in nanj vezanim kvantitativnim lokusom obstaja pomembna razlika – genotip živali je mogoče določiti le za genetski označevalec. Ker pa je le-ta vezan na kvantitativni lokus, lahko posredno, preko odbire genetskega označevalca, odbiramo tudi kvantitativni lokus. Gre za koncept, na katerem temelji na označevalce oprta selekcija (MAS – angl. *Marker Assisted Selection*).

Ko skušamo odkriti kvantitativne lokuse za določeno lastnost ali skupino lastnosti, ponavadi oblikujemo poskusno populacijo, v kateri obstaja velika verjetnost segregacije teh genov. S ciljem iskanja kvantitativnih lokusov za različne pitovne in klavne lastnosti piščancev so na Oddelku za zootehniko Biotehniške fakultete leta 1999 začeli z izvedbo obsežnega poskusa, ki je temeljil na tako imenovanem modelu FSIL (angl. *Full Sib Intercross Line*) (Song in sod., 1999). FSIL pristop je vključeval križanje med dvema linijama piščancev, ki sta bili predhodno 25 generacij selekcionirani na večjo oziroma manjšo telesno maso pri osmih tednih starosti. Izbrali so dva  $F_0$  starša (enega iz težke, drugega iz lahke linije) ju medsebojno recipročno parili in pridobili prvo ( $F_1$ ) sestrsko generacijo. Z naključnim križanjem osebkov v prvi generaciji so prišli do druge ( $F_2$ ) generacije potomcev. Opisani postopek naključnih parjenj so nato nadaljevali do vključno devete ( $F_9$ ) generacije križanj. Fenotipske podatke za cel niz pomembnih telesnih mas in klavnih lastnosti so zbrali na osebkih iz  $F_3$ ,  $F_7$  in  $F_9$  generacije.

Namen pričujoče diplomske naloge je bil zbrati in ovrednotiti vse fenotipske meritve, ki so bile opravljene v različnih generacijah modela FSIL. Ti podatki so osnova za nadaljnje statistične analize, ki skušajo povezati fenotipske podatke s polimorfizmi na DNA nivoju in na ta način identificirati kvantitativne lokuse za lastnosti, ki so obdelane v tej nalogi.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 RAZVOJ PERUTNINARSTVA IN GENETIKE V 20. STOLETJU

Na začetku 20. stoletja je bilo perutninarstvo sekundarna dejavnost na družinskih kmetijah, ki je zagotavljalo le majhen dohodek. V tistih časih je bilo piščančje meso visoko cenjena hrana in pripravljali so jo samo ob posebnih priložnostih. Skozi dvajseto stoletje je poraba perutninskega mesa stalno naraščala in danes je v mnogih področjih sveta perutninsko meso glavni vir živalskih beljakovin in dietične prehrane. Ta hiter razvoj se je začel z dvoriščnimi jatami z 10 do 50 kljuni na začetku 20. stoletja, se nadaljeval v jate z nekaj sto kljuni, rejnih v različnih oblikah proste reje v 30-ih in 40-ih letih prejšnjega stoletja, da bi se konec 20. in v začetku 21. stoletja reja odvijala v velikih, okoljsko kontroliranih enotah, ki jih upravljajo nacionalne in multinacionalne družbe (Etches, 2001).

Od sredine 19. stoletja so se rejci perutnine osredotočali na identifikacijo, odbiro in rejo mutantov, ki so izstopali v lastnostih kot so rast, prireja jajc, kločenje, barva in struktura perja, oblika grebena in še v številnih drugih morfoloških lastnostih. Tako sta npr. zaradi estetskega uživanja na daljnem vzhodu nastali pasmi silki (svilnata kokoš) in japonski dolgorepi petelin. Z enakim namenom so nastale številne pritlikave (bantam) pasme kokoši. V Indiji je bila izoblikovana pasma asil, ki se odlikuje po veliki borbenosti in kot taka še danes izkorišča v petelinjih bojih. Pasma kot so svetli saseks, rodajland in plimutka, so redili zaradi njihovega potenciala v prireji jajc in preskrbi z mesom ob prazničnih priložnostih (Etches, 2001).

Na začetku 20. stoletja je bilo naše poznavanje kokošjega genoma še dokaj skromno. Leta 1902 je Bateson opisal pravilnost Mendlovih zakonov dedovanja na kokoših, ko je ugotovil, da aleli za rožast in enostaven greben segregirajo skladno z Mendlovimi pravili. Leta 1905 sta Bateson in Punnett izpeljala poskus, v katerem sta križala kokoši z grahastim in rožastim grebenom in dobila potomce z orehastim grebenom. Pojav nove oblike grebena sta pojasnila s skupnim delovanjem alelov za grahasto in rožasto obliko grebena in tako prvič na živalih demonstrirala učinek epistaze (Etches, 2001).

Odkritje, da lahko aleli različnih genov vplivajo na fenotip preko epistatičnih interakcij je bilo ključnega pomena v našem razumevanju dedovanja in uporabnost tega odkritja v reji perutnine je danes enako pomembna kot je bila leta 1905. Že v prvih desetletjih 20. stoletja je bilo genetikom popolnoma jasno, da dedovanja kompleksnih lastnosti, kot sta rast in nesnost ne bo mogoče pojasniti samo z Mendlovimi zakoni. Ugotovitev Sewell-a Wright-a, po kateri je mogoče epistatične interakcije številnih genov, ki se dedujejo po mendelističnih vzorcih oceniti s statističnimi metodami je odprla vrata uporabi principov kvantitativne genetike v selekciji perutnine. Ves preostanek 20. stoletja je bila kvantitativna genetika glavni generator oblikovanja visoko proizvodnih težkih (mesnih) in lahkih (nesnih) linij kokoši (Etches, 2001).

Povezava med Mendlovim dedovanjem in fizično osnovo dedovanja se je razvijala dokaj počasi. Trenutno je le nekaj morfološko izstopajočih fenotipov mogoče zapisati v obliki DNA zaporedja, medtem ko nobene od kompleksnih lastnosti kot sta npr. rast in prireja jajc še ni mogoče opisati v jeziku molekularne biologije. V nekaterih primerih je v enotah DNA mogoče opisati dele kompleksnih lastnosti, spet v drugih primerih se za odkrivanje enot dedovanja koristijo različni tipi označevalcev (Etches, 2001).

## 2.2 KVANTITATIVNE LASTNOSTI

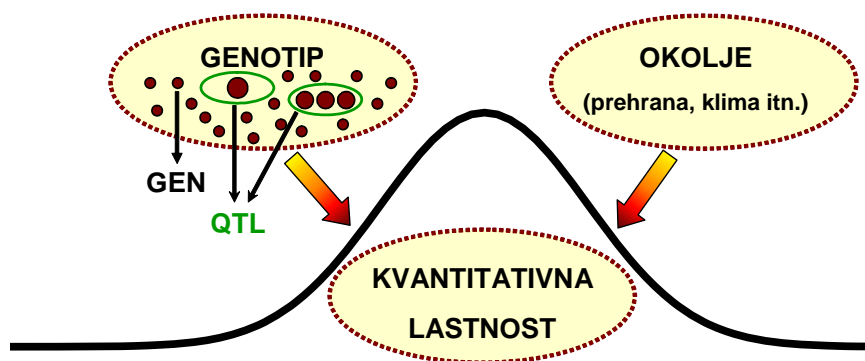
Kvantitativne lastnosti so več kot stoletje zavzemale osrednje mesto v genetskih študijah, saj so skupne populacijam vseh evkariontov. Gre za komercialno pomembne lastnosti v agronomiji in živinoreji, kot tudi za vitalne lastnosti pri ljudeh. V obdobju do leta 1980 je proučevanje kvantitativnih lastnosti vključevalo statistične tehnike, ki so temeljile na povprečjih, variancah in kovariancah sorodnikov, z nobenim pravim znanjem o številu in lokaciji genov, ki te lastnosti določajo. Zadostovala je domneva, da v populaciji segregira več genov, pri čemer vsak prispeva le manjši delež k izražanju neke lastnosti. Kljub taki, minimalistični osnovi, je bil v poznavanju genetike kvantitativnih lastnosti narejen velik korak naprej. Lažje smo razumeli nekatere procese (npr. heterozis) in znali napovedati selekcijski napredek (Kearsey in Farquhar, 1998).

Ta uspeh sicer ne pomeni, da se genetski napredek ne bi mogel še stopnjevati, če bi dobili vpogled v molekularne osnove kvantitativnih lastnosti, še zlasti tistih, ki jih s klasičnimi metodami selekcije težko izboljšujemo. Gre za lastnosti z majhnim dednostnim deležem (odpornost na bolezni), lastnosti, ki jih težko merimo (odpornost na bolezni), lastnosti, ki jih lahko izmerimo samo pri enem od obeh spolov (nesnost), lastnosti, ki so izmerljive v pozni starosti (dolgoživost) ali lastnosti, ki zahtevajo, da za njihovo merjenje živali zakoljemo (kakovost mesa) (Dekkers in Rothschild, 2007).

Z genetskimi testi nam je molekularna genetika dala orodje za uresničitev zgoraj naštetih možnosti. Molekularni podatki so zanimivi za uporabo v genetski selekciji, ker imajo genetski testi dednostni delež enak 1, izvajamo jih lahko na obeh spolih in na vseh živalih, delamo jih lahko v zgodnjih življenjskih obdobjih in zahtevajo manjše število fenotipskih podatkov (Dekkers in Rothschild, 2007).

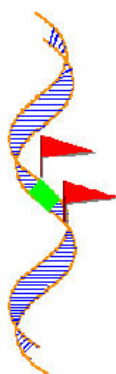
### 2.3 RAZISKOVANJE MOLEKULARNIH OSNOV KVANTITATIVNIH LASTNOSTI

Z uporabo molekularno-genetskih tehnik je bilo v zadnjih desetih letih kartirano veliko število genov pri glavnih vrstah domačih živalih. Čeprav imajo nekateri od teh genov določeno funkcijo v fiziologiji živali (npr. vsebujejo genetski zapis za protein), gre večinoma za nefunkcionalne ali »nevtralne« gene. Slednji so znani pod imenom genetski označevalci. Njihova značilnost je, da so naključno raztreseni po vsem genomu in se ne izražajo, kar z drugimi besedami pomeni, da se informacije, shranjene v zaporedju nukleotidov njihove DNA, ne prevedejo v zaporedje aminokislin in s tem tudi ne v beljakovino (Drobnič, 2009). Dejstvo, da so genetski označevalci nefunkcionalni, še ne pomeni, da so tudi neuporabni. Genetske označevalce lahko uporabimo za identifikacijo genov, ki vplivajo na kvantitativne lastnosti (tako imenovani kvantitativni lokusi ali QTL). Konceptualno je kvantitativni lokus lahko en sam gen ali skupina vezanih genov, ki vplivajo na lastnost. Ker z obstoječimi metodami ne moremo ločiti med navedenima možnostma, uporabljamo za označitev kromosomske regije izraz »lokus« (Dekkers in Rothschild, 2007) (slika 1).



Slika 1: Dejavniki, ki vplivajo na kvantitativne lastnosti. Kvantitativne lastnosti določa delovanje genetskih dejavnikov (poligenov) in dejavnikov okolja (Terčič, 2009a)

Pomembna razlika med genetskimi označevalci in nanje vezanimi QTL-i je ta, da lahko določimo kakšen genotip ima žival za genetski označevalec, ne pa tudi za kvantitativni lokus. Vendar, če se označevalski lokus in QTL nahajata blizu skupaj na istem kromosomu, se bosta skupaj dedovala. Za taka lokusa pravimo, da sta genetsko vezana. Genetski označevalec, ki je genetsko vezan s QTL lahko izkoristimo za posredno selekcijo na kvantitativni lokus, kar je bistvo na označevalce oprte selekcije (MAS) (Dekkers in Rothschild, 2007) (slika 2).



Slika 2: Vezano dedovanje genetskega označevalca in QTL. Zelen pravokotnik na DNA vijačnici nakazuje na prisotnost zelenega QTL (gena), ki se pojavlja v povezavi z dvema genetskima označevalcema (rdeči zastavici) (Genetic Markers, 2009)

Na QTL vezan označevalec odkrijemo s primerjavo fenotipskih vrednosti osebkov z alternativnimi označevalskimi genotipi. Razlika v srednjih fenotipskih vrednostih nakazuje, da je označevalec vezan na QTL. V zadnjih desetletjih je bil narejen velik napredek v iskanju genov ali označevalcev povezanih z geni, ki vplivajo na ekonomsko pomembne lastnosti v živinoreji. V ta namen sta se izkoriščali dve poglavitni strategiji: a) tehnika presejanja genoma živali iz poskusnih križanj in b) tehnika kandidatnih genov (Dekkers in Rothschild, 2007).

Tehnika presejanja genoma živali iz poskusnih križanj izkorišča genetske označevalce razpršene po celotnem genomu za identifikacijo genomskih regij, ki vsebujejo QTL. V perutninarstvu je bila večina raziskav po tej metodi opravljenih na F<sub>2</sub> križancih posameznih pasem ali linij. V omenjenih raziskavah je bilo odkritih veliko genomskih regij, ki so nastopale v povezavi z ekonomsko pomembnimi lastnostmi. Čeprav so medpasemska križanja zelo učinkovita pri iskanju QTL, so s QTL-i povezani označevalci lahko precej oddaljeni od gena z velikim učinkom. Poleg tega s tem pristopom odkrijemo gene, ki povzročajo razlike med pasmama, uporabljenima v križanju, ti geni pa nujno ne kažejo variabilnosti znotraj pasme, kar je zahteva pri izvajanju selekcije znotraj pasme. Oba naštetata dejavnika omejujeta neposredno koriščenje rezultatov iz medpasemskih križanj za znotraj pasemsko selekcijo (Dekkers in Rothschild, 2007).

Tehnika kandidatnih genov izkorišča znanje pridobljeno pri vrstah, kjer je na voljo več genomskih informacij (npr. človek, miš), izkorišča znanje o učinkih mutacij pri ostalih vrstah, znanje o predhodno identificiranih QTL regijah in/ali znanje o fizioloških osnovah lastnosti, vse z namenom identifikacije genov, ki igrajo določeno vlogo v fiziologiji lastnosti (Dekkers in Rothschild, 2007). Po opravljenem kartiranju in identifikaciji polimorfizmov znotraj gena je mogoče povezavo genotipa na kandidatnem genu s fenotipom oceniti v zaprti populaciji kokoši.

V nasprotju s tehniko presejanja genoma medpasemskih križancev, identificiramo s tehniko kandidatnih genov označevalce, ki so na ali blizu vzročnega gena in segregirajo znotraj pasme. Zato lahko te uporabimo za neposredno izvajanje znotraj pasemske selekcije (Dekkers in Rothschild, 2007).

Doslej je bilo, še posebno s tehniko kandidatnih genov, odkritih več genov ali označevalcev, ki se uporabljajo v živinoreji. Primeri obsegajo genetske označevalce za QTL-e povezane z rastjo, trebušno zamaščenostjo, nesnostjo, lastnostmi jajc in odpornostjo na bolezni. Nedavne študije genov in kartiranj QTL-ov so tudi pokazale, da je učinek nekaterih genov ali QTL-ov odvisen od tega, ali je bil slednji podedovan po očetu ali po materi (Dekkers in Rothschild, 2007). Tako je bilo npr. v primeru gena IGF2, ki vpliva na sestavo klavnih trupov pri prašičih ugotovljeno, da se izraža po očetovi strani, kar pomeni, da se pri potomcih izrazi le kopija, ki se podeduje po merjascu (Van Laere in sod., 2003). To odkritje odpira možnosti za strateško uporabo genov v programih križanj. Če namreč svinjo, ki je potomka homozigotnega merjasca za »zamaščen« alel na IGF2 križamo s terminalnim merjascem, ki je homozigoten za »nezamaščen« alel, bodo imeli vsi njuni potomci nezamaščeno meso, saj so podedovali očetovski alel za nezamaščenost. Ker pa so svinje (matere) podedovale »zamaščen« alel od njihovega očeta, razpolagajo z rezervami, ki jim pomagajo v času brejosti in laktacije, vendar pa se ta lastnost ne izraža pri potomcih zaradi dominance očetovega »nezamaščenega« alela (Buys in sod., 2006).

## 2.4 DOLOČITEV NUKLEOTIDNEGA ZAPOREDJA KOKOŠJEGA GENOMA

Pri naslanjanju na tehniko kandidatnih genov je koriščenje primerjalne genetike ključnega pomena. Od marca 2004 razpolagamo s prvim osnutkom sestave kokošjega genoma. Ta osnutek se vseskozi dopolnjuje. Zadnja različica predvideva okrog 24000 genov v kokošnjem genomu. Večina od teh (več kot 50%) ima homologa pri ostalih vrstah, samo manjše število njih (okrog 1000) je bilo podrobneje proučenih (Albers in sod., 2006).



Ne glede na to, je poznavanje sestave kokošjega genoma velikega pomena pri iskanju informacij o genetskih osnovah lastnosti, ki so pomembne tudi za komercialno perutninarstvo. Edini omejitvi na poti razkrivanja molekularno-genetskih osnov posameznih lastnosti sta čas in denar. Na srečo veljajo kokoši za najpomembnejšo vrsto perutnine, ki se koristi za splošne in medicinske raziskave zaradi česar v genomiko perutnine ne investira samo industrija perutnine. Tako je bila tudi določitev nukleotidnega zaporedja kokošjega genoma finančno podprta s strani ameriškega nacionalnega inštituta za zdravje (Albers in sod., 2006).

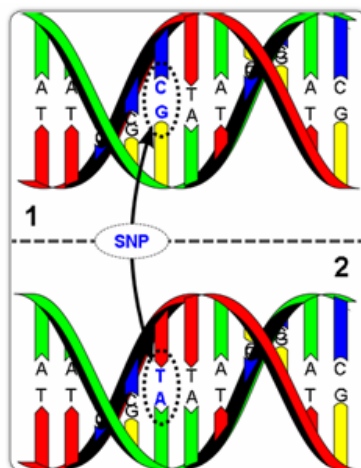
Trenutno so raziskovalci postavljeni pred izziv, da omenjeni bogat vir informacij izkoristijo v rejske namene. Eden od načinov izkoriščanja nakopičenih informacij je študij kandidatnih genov na način, kot je zapisan v zgornjih odstavkih. Druga možnost je izkoriščanje informacij o velikem številu genetskih označevalcev, ki so se nabrale v času določanja nukleotidnega zaporedja kokošjega genoma (Albers in sod., 2006).

#### **2.4.1 Označevalci SNP (angl. Single nucleotide polymorphisms)**

O SNP variabilnosti oziroma polimorfizmu posameznih nukleotidov govorimo, ko posamezen nukleotid (adenin, timin, citozin ali gvanin) zamenja enega od preostalih treh (slika 3). Znanstveniki so primerjali delna nukleotidna zaporedja težkega tipa kokoši, lahkega tipa kokoši in kitajske pasme silki (svilnata kokoš) s popolnim nukleotidnim zaporedjem rdeče gozdne kokoši (prednika udomačenih pasem kokoši) in odkrili milijone SNP-jev. V selekcijskem delu je mogoče SNP-je izkoristiti kot genetske označevalce zlasti zaradi njihove vezave z lokacijami v genomu, ki pojasnjujejo znaten delež genetske variabilnosti. Praktična uporabnost označevalcev je odvisna od stopnje vezave z obravnavano regijo v genomu in od stroškov genotipiziranja (Albers in sod., 2006).

Oba kriterija označevalci SNP zadovoljivo izpolnjujejo: prvič, označevalci SNP so na voljo v tako velikem številu (1 na vsakih 200 baznih parov DNA), da lahko teoretično za vsako edinstveno lokacijo najdemo označevalca SNP in drugič, stroški genotipiziranja označevalcev SNP so relativno majhni (Albers in sod., 2006).

Zato se označevalci SNP veliko koristijo v humani genetiki, kjer se več kot 500000 SNP-jev uporablja za identifikacijo tistih, ki so tesno povezani z genetsko varianco proučevane lastnosti (Albers in sod., 2006).



Slika 3: Označevalci SNP – prikazana je točkovna mutacija med molekulo DNA št. 1 (CG) in molekulo DNA št. 2 (TA), ki je osnova za določanje polimorfizmov med osebki (Genealogical DNA test, 2009)

Na področju perutninarstva je mogoče z izkoriščanjem SNP-jev izboljšati rezultate predhodnih študij kartiranj kvantitativnih lokusov v smislu natančnejše določitve lokacije major genov z relativno majhnim nizom označevalcev. Dejansko lahko to »novo generacijo« QTL-ov kartiramo tako natančno, da manjše število označevalcev varno uporabimo za selekcijo na major gene, ne da bi pri tem vseskozi ugotavljali fazo vezave (Albers in sod., 2006).

Pokritje celotnega genoma z označevalci postaja vse bolj realistična izbira. Bistvo omenjenega pristopa, ki so ga kot prvi zagovarjali Meuwissen in sod. (2001) je v tem, da je mogoče genetsko vrednost neke živali dobiti s hkratno ocenitvijo učinkov genov z vseh kromosomskih lokacij. Da bi dosegli ta cilj, potrebujemo vsaj toliko označevalcev, kot je ocenjeno število genov in te moramo testirati pri vseh plemenskih živalih. Na to se navezuje veliko dela in truda, potrebno bo najti nekatere rešitve glede računalniške obdelave podatkov, vendar zadnje tehnične izboljšave nakazujejo, da je Meuwissenova vizija vse bolj na dosegu roke (Albers in sod., 2006).

## 2.5 UPORABNOST MOLEKULARNO GENETSKIH INFORMACIJ V INTENZIVNEM PERUTNINARSTVU

V ospredju zanimanja rejcev perutnine ostajajo lastnosti (npr. prireja jajc, prirast, izkoriščanje krme) na katere vpliva veliko število genov. Geni, ki kodirajo kateregakoli od metaboličnih procesov povezanih z metabolizmom energije in beljakovin so povezani s proizvodnimi lastnostmi, vendar natančen vpliv vsakega od teh genov na posamezno lastnost ni znan. Tako na primer vsak izmed encimov v Krebsovem ciklu prispeva svoj prispevek k rasti. Vsak izmed hormonov, ki vplivajo na intermediarni metabolizem (npr. adenokortikotropni hormon, glukagon, inzulin, rastni hormon, tiroidni hormoni) lahko vpliva na rast. Vsak od hormonov nastopa v vzajemni povezavi z receptorjem, vsak receptor pa kodira eden ali več lokusov (Etches, 2001). Na izražanje vsakega gena vplivajo sosednja zaporedja DNA in vsako od teh zaporedij nastopa v medsebojni povezavi z nizom cis in trans aktivatorjev, kodiranih znotraj genoma. Na vsakem od teh genov so aleli, ki prenašajo različne stopnje reakcij in mutacij, ki ne vplivajo na funkcijo.

V različnih tkivih lahko poteka prepis genov po različnih poteh, kar povzroči, da je najbolj »koristen« prepis v enem tkivu (merjen kot kvantitativna lastnost-npr. prirast) v drugem tkivu najmanj »koristen«. Veliko število permutacij in kombinacij alelov in interakcije med njimi na različnih lokusih sprožajo veliko število oblik genov (Etches, 2001).

Uspešni rejci perutnine uporabljajo kvantitativno selekcijo za povečanje frekvence tistih genov, ki prispevajo k večji prireji v populaciji. Domnevamo lahko, da je rezultat kvantitativne selekcije tudi niz alelov, ki vzajemno delujejo učinkovito, čeprav so ta vzajemna delovanja od živali do živali različna. Tako aleli kot tudi njihove medsebojne interakcije določajo fenotip, merjen kot prirast ali kakšna druga proizvodna lastnost, in oboji prispevajo k variabilnosti fenotipskih vrednosti, kar se koristi pri selekciji najboljših živali v vsaki generaciji (Etches, 2001). Leta 1939 si je Sewall Wright (cit. po Etches, 2001) postavil vprašanje: »Predpostavimo, da razpolagamo s popolno karto vseh kromosomov, ki kaže lokacije pomembnih genov za proizvodne lastnosti kot tudi lokacije primernih označevalskih genov. Kako si lahko pomagamo z njo?«

Sedemdeset let kasneje, v dobi, ko je razumevanje molekularne in celične biologije ustvarilo proizvode in obljube, ki poganjajo celoten sektor ekonomije, nismo sposobni odgovoriti na to temeljno vprašanje. Odgovoriti ne moremo zato, ker ne vemo koliko genov je vključenih v kompleksne proizvodne lastnosti; ne vemo koliko alelov je na vsakem od genov in ne vemo kako geni in njihovi aleli vplivajo drug na drugega (Etches, 2001).

V sedanjem času in v bližnji prihodnosti pitovnih piščancev in nesnic ni mogoče opisati kot serijo adeninov, timinov, gvaninov in citozinov, kajti število permutacij in kombinacij je enostavno preveliko. Poleg tega lahko številni genotipi dajejo enake fenotipe, kar pomeni, da je razločevanje med njimi s koriščenjem neke kvantitativne lastnosti kot je npr. rast težavno, če ne že kar nemogoče. Označevalske gene lahko uporabimo kot pomoč pri selekciji najboljših genotipov, še zlasti ko je treba v zgodnjih stadijih identificirati gene, ki prenašajo merljiv učinek na kvantitativno lastnost (npr. QTL). Dolgoročno pa bo potrebno označevalske gene zamenjati z geni, ki jih označevalci označujejo (Etches, 2001).

## 2.6 PRIHODNOST MOLEKULARNO-GENETSKIH TEHNIK V PERUTNINARSTVU

### 2.6.1 Selekcija na nivoju genoma

Pričakujemo lahko, da se bo v prihodnjih letih selekcija perutnine vršila na vse večje število major genov. Prav tako obstajajo obeti pokritja genoma s SNP-ji, ki bi jih koristili v selekcijske namene. Upošteva se oboje se predvideva, da bodo čez deset let na genomskih informacijah utemeljeni selekcijski postopki bistven sestavni del vsakega rejskega programa. Taki selekcijski postopki lahko postopoma postanejo jedro rejskih programov, saj je genom navsezadnje bistvo genetske variabilnosti (Albers in sod., 2006).

## 2.6.2 Genetska modifikacija

Z določitvijo nukleotidnega zaporedja kokošjega genoma je bil storjen velik korak naprej v pojasnjevanju vseh genskih struktur pri kokoših.

Seveda »črna skrinjica« ne bo popolnoma odprta vse dokler ne bomo sposobni prehoditi celotne poti – od strukture gena preko njegove funkcije, izražanja, interakcij med proteini, biokemijskih in signalnih poti, celične funkcije, komunikacije celica-celica do popolnega razumevanja vseh dejavnikov, ki določajo fenotip. Izpolnitev te naloge zahteva napor, ki si ga danes ne moremo niti predstavljati. Z gotovostjo lahko računamo, da se bo znanje preko obstoječih in prihodnjih raziskav na področjih proteomike, metabolomike in drugih »-omik« ter preko novih tehnologij povečevalo. Zato lahko že danes trdimo, da bomo v prihodnjih letih znali pojasniti številne izolirane, kritične poti od strukture gena pa vse do fenotipa. Ko bo enkrat tako znanje na voljo, sledi naslednji korak, to je njegovo izkoriščanje preko neposredne manipulacije strukture in funkcije gena (Albers in sod., 2006).

Pogoj za praktično uporabno, usmerjeno manipulacijo z geni je razpolaganje z učinkovito tehnologijo genetske modifikacije živali. Pri pticah je to velika ovira, kajti vnos transgena ali genskega konstrukta v ptičji zarodek je veliko bolj zapleten kot pri sesalcih (Mozdziak in Petite, 2004). Čeprav se trenutno transgeneza osredotoča na farmacevtske potrebe, dosežki na tem polju odpirajo poti za njihovo izkoriščanje v kmetijske namene. Vsekakor bo ta naloga vzela veliko časa saj prvič, potrebujemo veliko več znanj o delovanju genov pri kokoših, da bi se lahko lotili genetske modifikacije kokoši za kmetijske namene in drugič, obstoječi sistemi genetske modifikacije pri kokoših zahtevajo izboljšave. Ko bosta omenjeni prepreki preseženi, bo minilo še vsaj pet let do osnovanja genetsko spremenjene pasme. Zato se pričakuje, da bo prva genetsko spremenjena kokoš s potencialom za komercialno prirejo na tržišču čez 15-20 let (Albers in sod., 2006).

## 2.7 MODELI ZA ISKANJE KVANTITATIVNIH LOKUSOV V ŽIVINOREJI IN NJIHOVA POVEZAVA S SELEKCIJO, KI SE OPIRA NA OZNAČEVALCE (MAS- ANGL. *MARKER ASSISTED SELECTION*)

V primerjavi s kartiranjem genomov rastlin in laboratorijskih živali, se pri kartiranju genoma domačih živalih soočamo z naslednjimi izzivi (De Koning in sod., 2003): a) inbridirane linije nam niso na voljo; b) vzdrževanje poskusnih populacij je lahko zelo drago in c) razmnoževalna sposobnost in generacijski interval sta pogosto omejujoča dejavnika v izbiri poskusnega modela. Vse našteje elemente moramo upoštevati tako pri izbiri kot tudi pri analizi QTL poskusov. V dosedanjih raziskavah je bilo uporabljenih veliko različnih modelov za odkrivanje QTL regij v genomih domačih živali.

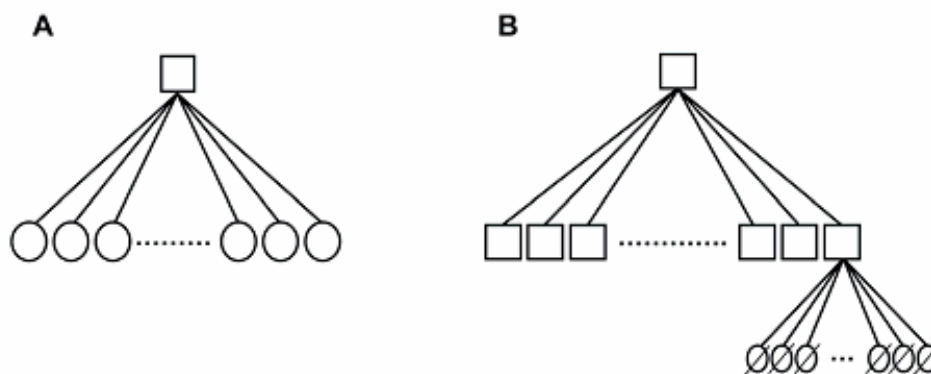
Poskusna križanja so bila izpeljana pri prašičih in perutnini, saj je za oboje značilen relativno kratek generacijski interval in dokaj dobra razmnoževalna sposobnost. Opravljena so bila križanja med udomačenimi pasmami in njihovimi divjimi predniki (npr. križanje med divjim prašičem in pasmo veliki beli prašič-Large White ali pa križanje med rdečo gozdno kokošjo in pasmo beli leghorn) (Carlborg in sod., 2003), kot tudi križanja med fenotipsko precej različnimi komercialnimi pasmami (npr. kokošmi lahkega in kokošmi težkega tipa) (Ikeobi in sod., 2002). Model analize je praktično enak kot pri analizi križanj inbridiranih linij: ugotovi se izvor označevalskih alelov v drugi ( $F_2$ ) generaciji. Za vsak označevalec se žival označi glede na to ali je homozigotna za alel od  $F_0$  očeta ali je homozigotna za alel od  $F_0$  matere. Povezava med označevalcem in QTL-om se določi na podlagi značilnosti »učinka« označevalca na lastnost oziroma na podlagi razlike v srednjih vrednostih potomcev homozigotnih za alel od  $F_0$  očeta in homozigotnih za alel od  $F_0$  matere. Pri križanju med neinbridiranimi linijama si lahko izvorni liniji delita alele na označevalskem nivoju, kar je treba upoštevati pri analizi.

Ker liniji nista nujno fiksirani za alternativne QTL alele, te analize ocenijo kontraste med povprečnimi učinki QTL alelov starševskih pasem, le ti pa predstavljajo le ocene dejanskih učinkov, do katerih bi prišlo, če bi bile alternativne QTL alele fiksirane v izhodiščnih linijah (De Koning in sod., 2003).

Model dopušča uporabo statistične metode najmanjših kvadratov, mogoče pa ga je prilagoditi tudi za kompleksnejše genetske modele kot npr. imprinting, spolno vezane in/ali spolno specifične QTL ter za epistatične QTL interakcije. Imprinting je mogoče analizirati ker segregacija na označevalskih lokusih v izhodiščnih linijah omogoča razlikovanje starševskega izvora alelov pri heterozigotnih  $F_2$  potomcih (Mantey in sod., 2005). Gre za prednost, ki je ni možno koristiti, če medsebojno križamo inbridirane linije modelnih organizmov. Večina teh modelov je bila vključenih v pakete analiz, ki so prosto dostopni preko svetovnega spleta.

Za ovce in govedo bi bilo predrago in časovno preveč potratno, da bi oblikovali posebne poskusne populacije, čeprav so bile nekatere poskusne  $F_2$  populacije in populacije povratnih križancev izoblikovane tudi pri teh dveh vrstah. V praksi bi bilo to smiselno le v primeru, če bi bilo križanje gospodarsko upravičeno ali, če bi imeli fenotipi, ki bi bili predmet raziskave zelo velik ekonomski pomen ali pomen z vidika dobrobiti živali (Weller in sod., 1990).

Bolj pogost pristop temelji na izkoriščanju velikih očetovskih polsestrskih družinskih struktur, s katerimi razpolagamo pri vrstah kot je npr. govedo, kjer je razširjeno osemenje in zbiranje podatkov na terenu. V teh polsestrskih modelih se genotipizira številne stare očete in njihove polsestrske potomce. Fenotipski podatki se merijo bodisi na samih polsestrskih potomcih ali na skupini potomcev iz vsake polsestrske skupine. Pri mlečnem tipu goved, kjer imajo v progeni test vključeni biki tudi po več kot sto hčera z izmerjenimi fenotipskimi vrednostmi, je bil v številnih državah uspešno vpeljan tri-generacijski polsestrski model (t.i. model vnukinj) (Weller in sod., 1990) (slika 4).



Slika 4: Poskusne populacije za kartiranje QTL pri govedu. A = model hčera, pri katerem se genotipsko in fenotipsko izrednotijo hčere določenega bika; B = model vnukinj, pri katerem se genotipizirajo sinovi bika, fenotipsko izrednotijo pa njegove vnukinje. Kvadrati predstavljajo moške, krogi pa ženske živali. Simboli za ne-genotipizirane živali so prečrtani (Masle, 2007: 94)

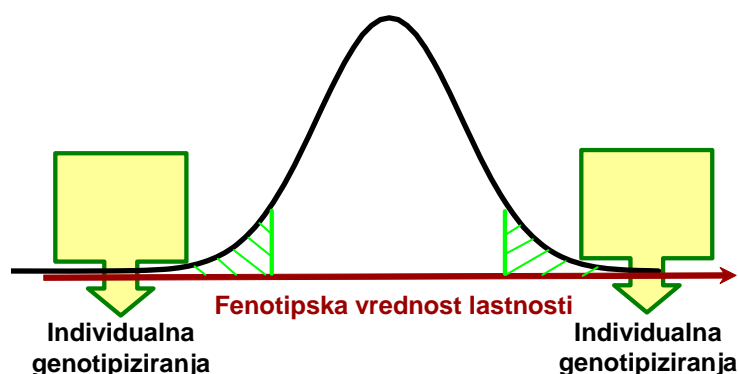
Na metodi najmanjših kvadratov osnovane analize ocenijo edinstven učinek kvantitativnega lokusa znotraj vsake polsestrske družine. Ker polsestrske družinske strukture obstajajo tudi znotraj poskusnih križanj, se te modele pogosto prilagodi na populacije medlinijskih križancev. Na ta način dobimo vpogled v odkrite QTL-e preko preverjanja za katere  $F_1$  starše obstaja največja verjetnost, da bodo heterozigotni za QTL. Isto metodologijo je mogoče prilagoditi tudi za sestrskeske družinske strukture, če so le družine dovolj velike. Zaenkrat je bil ta pristop uporabljen le pri kartiranju QTL-ov v perutninarstvu (De Koning in sod., 2003).

Nekatere analitične metode, ki so bile prvotno namenjene za analize človeških populacij se izkoriščajo tudi za analiziranje populacij domačih živali. Med temi velja omeniti analize parov sorodnikov (angl. »*sib pair*«), TDT teste (angl. »*transmission/disequilibrium tests*«) in model komponent variance (VC) (Lynch in Walsh, 1997). Metoda komponent variance predpostavlja, da so učinki kvantitativnega lokusa naključni. Oblikuje se matrika z verjetnostmi, da je za opažen označevalski genotip vsaka kombinacija alelov identična po poreklu. Ta služi kot osnova za modeliranje strukture kovarianc med učinki kvantitativnega lokusa.



S strani kvantitativnega lokusa nepojasnjeno poligeno variabilnost vključimo v model kot naključni vpliv. Metoda komponent variance nam torej omogoča, da na osnovi informacije o označevalcu izračunamo delež genetske regije, ki je med dvema osebkoma identična po poreklu (Lynch in Walsh, 1997). Vse našete v človeških populacijah koriščene metode (analize parov sorodnikov, TDT testi, metoda komponent variance) zahtevajo pred rutinskim izkoriščanjem dodatne izboljšave. Imajo pa kar nekaj prednosti: a) enako so uporabne tako za odkritje QTL kot tudi za vrednotenje QTL v MAS; b) za vsak osebek v rodovniku zagotavljajo genotipske plemenske vrednosti; c) uporabne so pri številnih vrstah živali in tudi pri ljudeh (De Koning in sod., 2003).

Kjer je v središču zanimanja le ena lastnost ali mogoče indeks se lahko poslužujemo tehnike selektivnega genotipiziranja, pri kateri genotipiziramo le osebkke s skrajnih repov porazdelitve fenotipskih vrednosti znotraj družine ali križanja (De Koning in sod., 2003) (slika 5).



Slika 5: Selektivno genotipiziranje. Genotipiziramo le živali iz zgornjega in spodnjega »repa« porazdelitve lastnosti (Van Arendonk in Bovenhuis, 2003)

Tako pridobljene podatke je mogoče analizirati po katerikoli predhodno opisani metodi, čeprav pogosto pride do pristranskih (precejenjenih) ocen QTL učinkov (De Koning in sod., 2003).

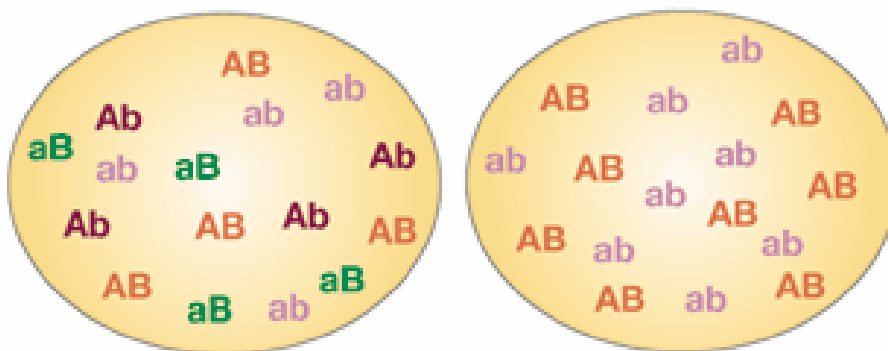
Selektivno združevanje DNA vzorcev (angl. *DNA pooling*), kjer znotraj družine primerjamo frekvence označevalskih alelov v združenem vzorcu DNA v »zgoranjem« repu porazdelitve s frekvenco označevalskih alelov v »spodnjem« repu porazdelitve prispeva k dodatnemu zmanjšanju števila genotipiziranj, čeprav je treba pri tem pristopu upoštevati tudi nekatere tehnične vidike, sicer lahko odkrijemo lažne QTL-e (Van Arendonk in Bovenhuis, 2003).

## 2.8 RAZLIČNI TIPI NA OZNAČEVALCE OPRTE SELEKCIJE (MAS) PRI DOMAČIH ŽIVALIH

Uporabnost MAS za doseganje genetskih napredkov pri domačih živalih je odvisna od natančnosti identifikacije QTL. S tem v zvezi ločimo tri nivoje natančnosti (De Koning in sod., 2003):

- a) Funkcionalne mutacije: lokusi na katerih lahko genotipiziramo funkcionalen polimorfizem.
- b) LD (angl. »*linkage disequilibrium*«) označevalci: lokusi, ki so na nivoju populacije v neravnotežju vezave s funkcionalno mutacijo.
- c.) LE (angl. »*linkage equilibrium*«) označevalci: lokusi, ki so na nivoju populacije v ravnotežju vezave s funkcionalno mutacijo.

Ravnotežje vezave in njegovo nasprotje, neravnotežje vezave sta izraza, ki ju uporabljamo, ko navajamo verjetnost skupnega dedovanja alelov na različnih lokusih. Za alele, ki so v naključni povezavi pravimo, da so v ravnotežju vezave. Verjetnost, da bomo našli en alel na določenem lokusu je neodvisna od verjetnosti, da bomo našli drug alel na drugem lokusu. Če pa alela nista v naključni povezavi, temveč se skupaj pojavljata pogosteje kot bi to pričakovali po naključju, pravimo, da sta v neravnotežju vezave (slika 6) (Van der Werf, 2000).



O ravnotežju vezave govorimo, kadar je verjetnost, da dobimo alel A oz. a, v kombinaciji z alelo B oz. b 0,5 se pravi, da so frekvence vseh štirih kombinacij alelov enake [frekv(AB) = frekv(Ab) = frekv(aB) = frekv(ab)]. Pri neravnotežju vezave pa sta lokusa A in B tesno genetsko vezana in zato pride težje do rekombinacij in rekombinantnih kombinacij alelov.

Slika 6: Vezavno ravnotežje (levo) in neravnotežje (desno) (Mackay, 2001: 11-20)

### 2.8.1 Na gene oprta selekcija (angl. *Gene Assisted Selection-GAS*)

Če se za odkritim QTL-om skriva funkcionalna mutacija, je izvedba MAS dokaj enostavna. Najprej se vpliv mutacije na vse selekcijske lastnosti kvantitativno ovrednoti, nakar se funkcionalna mutacija vključi v model ocene plemenske vrednosti kot sistematski (fiksni) učinek. Genotipizira se le selekcijske kandidate. Če bi hoteli omenjeni način selekcije razširiti tudi na druge pasme/linije živali, je treba tudi pri slednjih preveriti učinek funkcionalne mutacije, kajti, kot je bilo to dokazano v primeru lokusa za dvojno omišičenost pri govedu, na učinek funkcionalne mutacije vplivajo tudi preostali geni v genomu oziroma tako imenovano genetsko ozadje, ki pa je lahko pri različnih pasmah/linijah različno. V praksi si želimo odkriti čim več teh tako imenovanih neposrednih genetskih označevalcev, saj nam v tem primeru označevalski genotip natančno pove kakšen je QTL genotip. Trenutno v živinoreji že razpolagamo z neposrednimi genetskimi označevalci za gospodarsko pomembne lastnosti. Spodaj navajamo samo dva primera takih označevalcev (Dekkers, 2004):

- a) Halotanski gen pri prašičih. Gre za gen, ki kodira receptor za rianodin. Ta gen povečuje mesnatost prašičev vendar tudi njihovo dovzetnost za stres.
- b) Gen za dvojno omišičenost pri govedu. Gre za miostatinski gen, ki povečuje mišično maso.

### **2.8.2 MAS osnovana na uporabi označevalcev, ki se nahajajo v neravnotežju vezave (LD-MAS)**

Če je določen označevalski alel ali multipli označevalski haplotip na nivoju populacije v neravnotežju vezave s funkcionalno mutacijo na QTL, je uporaba MAS v tej populaciji približno tako enostavna kot uporaba GAS. Zahteve po genotipiziranjih so enake kot pri GAS, le da moramo, ko imamo opravka z LD haplotipom, uporabiti večje število označevalcev. Na dolgi rok je pomembno spremljati ali ostaja povezava med LD označevalci in funkcionalno mutacijo nespremenjena ali pa mogoče s časom, zaradi rekombinacij med označevalci in QTL, slabi (De Koning in sod., 2003). Za uporabo opisane metode selekcije v drugih populacijah, je treba v slednjih potrditi vpliv haplotipa, kar je mogoče izpeljati z asociacijsko študijo originalnega haplotipa, pogosto pa je za potrditev segregacije QTL potrebno izpeljati QTL študijo kandidatnih regij.

Zaradi različne faze z alelo QTL in/ali zaradi vpliva genetskega ozadja se lahko na LD označevalce vežejo različni učinki. Zelo dober primer za potrditev omenjene trditve je nekodirajoči polimorfizem v tako imenovanem genu ESR pri prašičih, ki je pri nekaj pasmah prašičev prispeval k večji velikosti gnezd, v drugih raziskavah pa nikakršnih oziroma celo nasprotno učinke (Short in sod., 1997).

### **2.8.3 MAS osnovana na uporabi označevalcev, ki se nahajajo v ravnotežju vezave (LE-MAS)**

V primeru LE-MAS se QTL uporabi v tisti populaciji kjer je bil odkrit. Ker se faza vezave med aleli označevalca in QTL spreminja od družine do družine, je treba učinek QTL ovrednotiti v vsaki družini posebej. To zahteva genotipiziranja večjega števila označevalcev ne le pri živalih, ki so kandidati za selekcijo, temveč tudi pri številnih njihovih sorodnikih. S pocenitvijo genotipiziranj in razvojem kompleksnejših statističnih metod obstaja možnost, da se LE-MAS razvije v sistem, kjer se bodo plemenske vrednosti napovedovale na osnovi označevalskih haplotipov, kar bi bilo enakovredno LD-MAS (De Koning in sod., 2003).

#### **2.8.4 Učinkovitost MAS**

V primerjavi s tradicionalno selekcijo, ki temelji na ocenjevanju plemenskih vrednosti, je učinkovitost MAS odvisna od tipa lastnosti in načina, kako informacija o QTL dopolnjuje oceno plemenske vrednosti. Nekaj dosedanjih rezultatov kaže na različne učinke MAS – od dodatnega 60 % napredka, ki ga napovedujejo nekatere simulacijske študije za klavne lastnosti do izgube v odzivu na selekcijo, ko se je fiksaciji major gena pripisoval prevelik pomen (Dekkers, 2004).

V doseganju kratkoročnih napredkov je GAS bistveno učinkovitejša od LE-MAS, čeprav je mogoče LE-MAS izboljšati z vključitvijo predhodne informacije o velikosti vsakega QTL učinka. Za LD-MAS se pričakuje le nezatno manjši odziv kot za GAS (Dekkers, 2004).

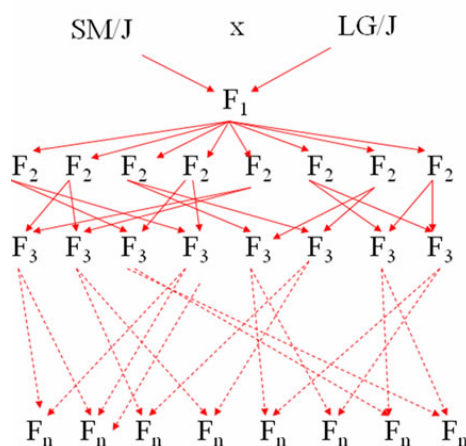
#### **2.9 OD ODKRITJA QTL DO GAS/LD-MAS: TEHNIKE NATANČNEJŠEGA KARTIRANJA**

Znotraj poskusnih populacij oziroma znotraj dvo- ali tri-generacijskih rodovnikov obstaja znatno neravnotežje vezave, zato se QTL-i v populacijah domačih živali odkrivajo v intervalih zaupanja, ki so ponavadi večji od 30 cM. V takih regijah se lahko nahaja na tisoče genov, ki ne omogočajo izvedbe LD-MAS, kaj šele izvedbe GAS. Strategije natančnejšega kartiranja QTL-ov temeljijo bodisi na ustvarjanju in identifikaciji dodatnih rekombinacij ali na izkoriščanju zgodovinskih rekombinacij ki, razen na kratkih razdaljah, spodkopavajo neravnotežje vezave. Ustvarjanje dodatnih rekombinacij zahteva domače živali s primerno kratkimi generacijskimi intervali, medtem ko izkoriščanje zgodovinskih rekombinacij zahteva informacije o zgodovini pasme (De Koning in sod., 2003).

### 2.9.1 Ustvarjanje dodatnih rekombinacij – poskusna križanja

Za povečanje števila rekombinacij okrog QTL regije je mogoče uporabiti dva tipa poskusnih križanj:

a) Napredujoče medsebojno križanje (angl. *Advanced Intercross Line* – AIL), kjer živali iz  $F_2$  križamo med seboj, da pridemo do  $F_3$  generacije, te živali zopet križamo med seboj, da pridobimo  $F_4$  generacijo in tako naprej do  $F_n$  generacije (slika 7). Za vsaki naslednji dve dodatni generaciji medsebojnega križanja pričakujemo, da se bo interval zaupanja za položaj QTL-a glede na stanje v  $F_2$  generaciji prepolovil. Opisani model je uporaben tudi zato, ker lahko na populaciji merimo številne lastnosti in QTL-e v različnih regijah genoma kartiramo z veliko natančnostjo. Potrebno število generacij in velikost populacije omejujejo vsesplošno uporabnost tega modela pri vseh vrstah domačih živalih. Pri perutnini je bil uporabljen že večkrat (Darvasi in Soller, 1995).



Slika 7: Napredujoče medsebojno križanje (Advanced Intercross Line, 2009)

b) Ponavljajoče povratno križanje z eno ali obema izhodiščnima linijama. Živali, pri katerih segregira QTL, se povratno križa z eno izmed izhodiščnih linij. Tiste potomce iz tega križanja, ki imajo alternativne označevalske haplotipe za QTL regijo, se odbere za starše naslednje generacije (Darvasi in Soller, 1995).

Fenotipske razlike označevalskih haplotipov pri potomcih kažejo, kateri starši segregirajo za QTL in na katerem mestu se ta najverjetneje nahaja. Za še natančnejšo umestitev regije se znotraj segregirajočih staršev odberejo potomci z alternativnimi označevalskimi haplotipi. V vsaki generaciji potrebujemo relativno majhno število očetov in njihovih potomcev, zaradi česar je metoda uporabna v QTL študijah prašičev. Pri odločanju o potrebnem številu generacij in živali znotraj modelov napredujočih medsebojnih križanj in povratnih križanj je treba na eno stran tehtnice postaviti velikost intervala zaupanja na drugo stran pa izgubo statistične moči odkritja QTL-a zaradi inbridinga in naključnega toka genov (genetskega zdrsa) (Tanksley in Nelson, 1996).

### **2.9.2 Raziskovanje zgodovinskih rekombinacij**

Za polsestrske družine iste pasme pričakujemo, da izhajajo iz omejenega števila skupnih prednikov. Domnevamo lahko, da so očetje, ki so heterozigotni za QTL nosilci prvotnega alela »divjega tipa« in »mutantnega« alela, ki so ga podedovali od skupnega prednika. Zaradi neravnotežja vezave okrog mutantnega alela na nivoju populacije, obstaja večja verjetnost, da si heterozigotni očetje delijo označevalske alele okrog te mutacije kot bi pričakovali, če bi šlo za naključje. Po opravljeni QTL analizi identificiramo heterozigotne očete, njihove označevalske genotipe pa razvrstimo v visok in nizek haplotip. Ob uporabi zadostnega števila označevalcev kažejo heterozigotni očetje ohranjen haplotip okrog QTL regije, ki je lahko precej manjši od prvotnega intervala zaupanja za QTL. Pričakovana velikost deljenega haplotipa je med drugim odvisna od števila generacij do izhodiščne mutacije in od efektivne velikosti populacije. Nadaljnje izčiščenje je mogoče doseči, če je bil enak QTL odkrit še v drugih populacijah ali celo pasmah. Metodologija, ki izkorišča tudi informacije homozigotnih očetov še poveča statistično moč. Omenjeni pristop se je izkazal za uspešnega pri prehodu od QTL do funkcionalne mutacije tako pri mlečnem govedu kot pri prašičih (De Koning in sod., 2003).

### 2.9.3 Selektivno rekombinantno genotipiziranje

Do velikega števila rekombinantov, kar je predpogoj za izvajanje natančnih kartiranj, pridemo po strategiji selektivnega rekombinantnega genotipiziranja z uporabo zelo velike poskusne populacije. Najprej se za označevalce, ki obkrožajo interval zaupanja določenega QTL-a tipizirajo osebkovi iz zgornjega in spodnjega konca porazdelitve fenotipskih vrednosti v populaciji. V nadaljevanju se živali, ki so rekombinanti znotraj označevalskega intervala tipizira za dodatne označevalce. Ponavadi se to stori s strategijami, ki zmanjšujejo potrebno število genotipiziranj, ki so sicer potrebna, da bi dobili popolne genotipe v regiji QTL-a. Čeprav je mogoče opisano strategijo uporabiti v  $F_2$  generaciji, v populaciji povratnih križancev in v polsestrskih modelih, pa zahtevana populacijska velikost (več kot 5000, pogosto celo več kot 10000 živali) omejuje njeno uporabnost, zlasti pri tistih vrstah domačih živali, kjer ne razpolagamo s tako velikimi populacijami (npr. govedo) (Ronin in sod., 2003).

### 2.9.4 Kandidatni geni

Če se QTL nahaja blizu gena za katerega se pričakuje, da igra določeno vlogo v biologiji lastnosti, je ta gen kandidatni gen. Populacijo se v takem primeru testira za polimorfizme v nukleotidnem zaporedju gena (Cockett in Medrano, 1995). Vplive polimorfizmov se nato testira z asociacijskim testom ali tako imenovanim TDT testom (angl. »*transmission/disequilibrium test*«). V primerjavi z metodami natančnega kartiranja zahteva tehnika kandidatnih genov sicer manj genotipiziranj, ima pa kljub temu nekatere pomembne pomanjkljivosti: a) interval zaupanja za QTL, ki je večji od 30 cM vsebuje tisoče genov in samo nekateri izmed njih vplivajo na lastnost. Potrebna je torej določena stopnja natančnega kartiranja, preden skušamo identificirati kandidatne gene. b) v  $F_2$  generaciji in v populaciji povratnih križancev obstaja znatno neravnotežje vezave, pogosto pa, kot posledica genskega zdrsa (angl. *drifta*), selekcije in/ali majhne efektivne velikosti populacije obstaja neravnotežje vezave tudi v komercialnih populacijah. Posledično lahko vsaka pozitivna povezava, ki jo najdemo za polimorfizme v kandidatnem genu obstaja za katerikoli polimorfizem v zelo široki regiji (Cheng, 2003).



## 2.10 OD ODKRITJA QTL DO LE-MAS

Upošteva je čas in stroške za izvedbo natančnega kartiranja, se za primernejšo strategijo izkaže izkoriščanje LE-MAS takoj po odkritju QTL-a. Res je, da je potencialni učinek LE-MAS manjši od LD-MAS ali GAS, toda, če LE-MAS uporabimo takoj, zagotovimo rejcu genetsko in komercialno (marketinško) prednost (Dekkers, 2004). V nadaljevanju sledi razprava o možnosti izkoriščanja LE-MAS v različnih poskusnih modelih.

### 2.10.1 MAS znotraj poskusnih linij

Pričakujemo lahko, da bo za nekatere kvantitativne lokuse koristni alel izhajal iz ene linije, za druge kvantitativne lokuse pa iz druge linije. V tem primeru je mogoče opraviti križanje s komercialno linijo kokoši, kjer označevalce izkoristimo za sledenje koristnih alelov. Zaradi neravnotežja vezave ta pristop ne zahteva označevalcev, ki bi bili tesno vezani na kvantitativne lokuse (De Koning in sod., 2003).

Zelo specifičen primer take na označevalce oprte introgresije (vnašanja koristnih genov) nastopi, ko je eden ali nekaj genov iz linije dajalca posebej koristnih za komercialno prejemniško linijo. V tem primeru opravimo več povratnih križanj poskusnih živali s komercialno linijo, kjer nam označevalci služijo za odbiro alelov dajalca v regiji kvantitativnega lokusa in proti alelom dajalca v ostalih regijah genoma (De Koning in sod., 2003).

### 2.10.2 Prenos rezultatov iz poskusnih križanj v komercialne populacije

Zgodi se lahko, da poskusnega križanja ne moremo prenesti v komercialno populacijo, saj sta si liniji preveč raznoliki ali pa kvantitativni lokusi segregirajo tudi znotraj komercialnih linij. Odkriti kvantitativni lokusi pojasnjujejo variabilnost med izhodiščnima linijama, medtem ko njihova segregacija znotraj teh linij ni poznana (De Koning in sod., 2003).

Opravljene raziskave na prašičih in perutnini (De Koning in sod., 2003) presenetljivo kažejo, da regije s kvantitativnimi lokusi iz poskusnih križanj pojasnjujejo velik delež variabilnosti znotraj komercialnih linij. V perutninarstvu, kjer se intenzivna selekcija pitovnih piščancev na hitro rast izvaja že več kot 50 generacij je ista regija, ki je pojasnjevala razlike v rasti med pitovnimi piščanci in nesnicami povzročila variabilnost v rasti znotraj linije pitovnih piščancev. Rezultate poskusnih križanj je potemtakem mogoče uporabiti pri izvajanju na označevalce oprte selekcije v komercialnih linijah kokoši. Namesto dragega in časovno zamudnega presejavanja celotnega genoma znotraj linij, izberemo nekaj kandidatnih regij iz poskusnih križanj in jih ovrednotimo znotraj komercialnih linij.

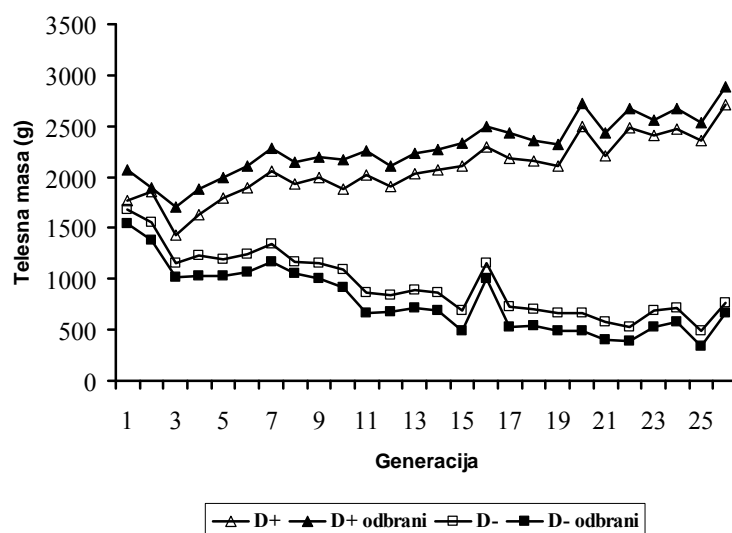
### **2.10.3 Plejotropni in neaditivni učinki QTL**

Pomembno nepojasnjeno vprašanje pri QTL analizah komercialnih populacij domačih živali je zakaj QTL-i s sorazmerno velikimi učinki še vedno segregirajo v komercialnih populacijah, kjer se intenzivna selekcija izvaja že več desetletij? Eden od možnih odgovorov je ta, da imajo aleli z neželenimi učinki na proizvodne lastnosti koristne učinke na lastnosti povezane z življenjsko odpornostjo (fitnesom) in zato ostajajo v populaciji v dokaj visoki zastopanosti. To pomeni, da je pomembno ovrednotiti vplive QTL na fitnes, sicer lahko vpeljava MAS prispeva k zmanjšanju le tega. Genetski modeli, ki se uporabljajo v polsestrskih družinah in drugih rodovniških strukturah običajno temeljijo na aditivnem QTL. Za nekatere QTL-e se zdi, da delujejo aditivno v genetskem ozadju kjer so bili odkriti, ko pa jih odberemo v drugem genetskem ozadju, nam dajo zaradi učinka epistaze povsem nepričakovane rezultate. Potemtakem je pred vpeljavo MAS pomembno, da raziščemo vse plejotropne (fitnes) in neaditivne učinke QTL-a. Ta naloga je zopet najenostavnejša takrat, ko poznamo funkcionalno mutacijo in na osnovi biološkega znanja ugotovimo, kakšne bodo posledice fiksiranja koristnega alela (De Koning in sod., 2003).

### 3 MATERIAL IN METODE

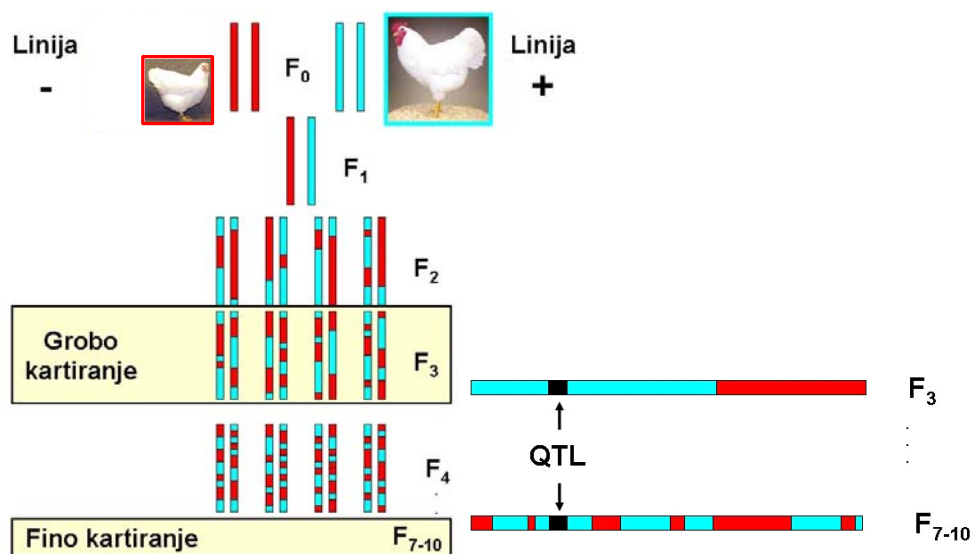
#### 3.1 POSKUSNA POPULACIJA

Poskusne živali so izhajale iz dvosmerno selekcioniranih linij kokoši na večjo oziroma manjšo telesno maso pri 8. tednih starosti. Dvosmerna selekcija je bila osnovana leta 1979 na moški liniji težkega tipa kokoši slovenske provenience Preluks (Terčič, 2004). Ob odbiri piščancev za reprodukcijo pri starosti osmih tednov so odbrali 50 najtežjih jarčk iz matične jate in 10 najtežjih petelinčkov za oblikovanje linije + (plus). Prav tako so odbrali 50 najlažjih jarčk in 10 najlažjih petelinčkov za oblikovanje linije - (minus). Na ta način so dobili navzgor selekcionirano linijo (D+) in navzdol selekcionirano linijo (D-), nakar so petindvajset generacij odbirali najlažje in najtežje živali (slika 8). Edini selekcijski kriterij je bil vseskozi telesna masa pri osmih tednih starosti in odsotnost vseh telesnih deformacij (Terčič, 2004).



Slika 8: Dvosmerna selekcija na telesno maso piščancev pri 8. tednih starosti (Terčič in sod., 2005: 1)

Ker predstavljajo dvosmerno selekcionirane linije zelo dober izhodiščni material za oblikovanje poskusnih populacij za iskanje QTL, so na Oddelku za zootehniko Biotehniške fakultete iz omenjenih dvosmerno selekcioniranih linij vzeli izhodiščne živali, jih medsebojno recipročno križali, da so prišli do  $F_1$  križancev, vsa nadaljnja križanja pa so izvajali v skladu s tako imenovanim modelom FSIL. Model FSIL temelji na ponavljajočih naključnih križanjih od  $F_1$  generacije naprej. To pomeni, da so  $F_1$  križance naključno parili med seboj, da so dobili  $F_2$  generacijo, živali v  $F_2$  generaciji so spet naključno parili med seboj, da so dobili potomce v  $F_3$  generaciji in tako naprej vse dokler niso prišli do  $F_9$  generacije, kjer so s križanji končali. Čeprav je naključnost v parjenju zaželena, so se skušali do določene mere izogniti parjenju v sorodstvu, zato so izvajali »pol-naključno« parjenje in vseskozi ohranjali veliko populacijo. Bistvo modela FSIL je v tem, da nam nudi okvir za izvedbo grobega kartiranja v začetnih generacijah (npr. v  $F_2$ ,  $F_3$ ) in bolj natančnega kartiranja v kasnejših generacijah (npr.  $F_8$ ,  $F_9$ ) (slika 9).



Slika 9: Model križanj FSIL. Z nadaljevanjem križanj se rekombinantni dogodki akumulirajo in okno okrog QTL se oži (Terčič, 2009b)

V začetnih generacijah namreč kažejo križanci omejeno število rekombinantnih dogodkov in posledično širok interval zaupanja za kvantitativne lokuse. V takih, obsežnih regijah kromosomov zelo težko identificiramo kandidatne gene. Z vsako naslednjo generacijo ponavljajočih križanj pa se interval zaupanja okrog QTL-a oži, zato ponujajo kasnejše generacije modela FSIL okvir za natančnejše (fino) kartiranje kvantitativnih lokusov (Darvasi in Soller, 1995).

Z namenom proučitve recipročnih učinkov parjenj, so križanja izvajali v dveh ločenih paralelah: A in B. V paraleli A je  $F_0$  oče izhajal iz linije D+,  $F_0$  mati iz linije D-, v paraleli B pa obratno,  $F_0$  oče iz linije D-,  $F_0$  mati pa iz linije D+. Zaradi velikih razlik v telesnih masah so  $F_0$  matere osemenjevali, v preostalih generacijah pa je potekalo naravno parjenje. Da bi se izognili negativnemu vplivu parjenj v sorodstvu so v  $F_3$  generaciji znotraj paralele A oblikovali pet družin, znotraj paralele B pa dve družini. Do zaključne  $F_9$  generacije je obstala ena družina v paraleli A in dve družini v paraleli B (slika 10).

### 3.2 MERITVE TELESNIH MAS IN KLAVNIH LASTNOSTI

V vseh generacijah so ob izvalitvi piščance individualno označili in jih razen v  $F_6$  generaciji stehali pri 55. dnevu starosti. V treh generacijah ( $F_3$ ,  $F_7$  in  $F_9$ ) so poleg tehtanja pri 55. dnevu starosti opravili še cel niz drugih meritev fenotipskih in klavnih lastnosti. V  $F_3$  in  $F_7$  generaciji so zaklali le del poskusnih živali, del je služil za nadaljevanje poskusa, v zadnji,  $F_9$  generaciji pa so zaklali in fenotipsko ovrednotili vse poskusne živali. V  $F_3$  in  $F_7$  generaciji so klanje opravili pri 56. dnevu starosti, v  $F_9$  generaciji pa so zaradi padca v telesnih masah živali in posledično težav pri določanju spola ter avtomatskem zakolu klanje opravili kasneje in sicer pri 83. dnevu starosti. Klanje živali je potekalo v eksperimentalni klavnici na Rodici v naslednjih fazah: obešanje živali na obešala klavne linije, omamljanje z električnim tokom v vodni kopeli, zakol živali z rezom vratnih žil, parjenje v vodi segreti na 58°C, skubenje v skubilnem stroju in ročna evisceracija (odstranitev drobovine in glave).

GENERACIJA	PARALELA A		PARALELA B	
	DRUŽINA A-1		DRUŽINA B-1	DRUŽINA B-2
$F_0 \times F_0$ (starši)	1 ♂ (težek) × 1 ♀ (lahka)		1 ♂ (lahek) × 1 ♀ (težka)	
$F_1$ (potomci)	↓ 19		↓ 11	
$F_1 \times F_1$ (starši)	↓ 1 ♂ × 9 ♀		↓ 1 ♂ × 4 ♀	
$F_2$ (potomci)	↓ 141		↓ 58	
$F_2 \times F_2$ (starši)	↓ 1 ♂ × 12 ♀		↓ 1 ♂ × 11 ♀	
$F_3$ (potomci)	↓ 133		↓ 135	
$F_3 \times F_3$ (starši)	↓ 1 ♂ × 12 ♀		↓ 2 ♂ × 15 ♀	↓ 2 ♂ × 15 ♀
$F_4$ (potomci)	↓ 64		↓ 52	↓ 19
$F_4 \times F_4$ (starši)	↓ 4 ♂ × 25 ♀		↓ 2 ♂ × 14 ♀	↓ 1 ♂ × 6 ♀
$F_5$ (potomci)	↓ 112		↓ 37	↓ 46
$F_5 \times F_5$ (starši)	↓ 5 ♂ × 31 ♀		↓ 2 ♂ × 7 ♀	↓ 3 ♂ × 16 ♀
$F_6$ (potomci)	↓ 150		↓ 57	↓ 68
$F_6 \times F_6$ (starši)	↓ 8 ♂ × 40 ♀		↓ 3 ♂ × 21 ♀	↓ 4 ♂ × 20 ♀
$F_7$ (potomci)	↓ 140		↓ 45	↓ 45
$F_7 \times F_7$ (starši)	↓ 7 ♂ × 55 ♀		↓ 3 ♂ × 13 ♀	↓ 4 ♂ × 23 ♀
$F_8$ (potomci)	↓ 247		↓ 83	↓ 155
$F_8 \times F_8$ (starši)	↓ 9 ♂ × 50 ♀		↓ 2 ♂ × 8 ♀	↓ 4 ♂ × 16 ♀
$F_9$ (potomci)	↓ 473		↓ 73	↓ 26

Slika 10: Potek križanj od začetne ( $F_0$ ) do končne ( $F_9$ ) generacije

Sledilo je tehtanje naslednjih organov/tkiv: jeter, vranice, srca, mišičnega želodca, abdominalne maščobe in očiščenih klavnih trupov skupaj s pljuči, ledvicami, vratom in stopali vendar brez glave. Po celonočnem hlajenju klavnih trupov na temperaturi +4°C so naslednji dan z ohlajenih trupov ločili mišičnino prsi, bedra (vzdolžen rez skozi kolčni sklep) in stopala (rez skozi tarzalni sklep). Vse tri klavne kose so stehali.

### 3.3 OBDELAVA PODATKOV

Za izračun osnovnih statističnih parametrov (srednja vrednost, standardni odklon, koeficient variabilnosti) smo uporabili proceduro MEANS, za izračun korelacij proceduro CORR, za testiranje posameznih vplivov na telesno maso živali pri 55. dnevu starosti pa proceduro GLM, vse v okviru statističnega paketa SAS/STAT (SAS/STAT User Guide, 1990). Podatke o telesnih masah pri 55. dnevu starosti smo v paraleli A obdelali z statističnim modelom, v katerega smo vključili vplive spola in valjenja, v paraleli B, kjer smo od F<sub>4</sub> generacije naprej imeli dve družini, smo dodatno vključili še vpliv družine. Za izračun koeficientov inbridinga smo uporabili naslednjo formulo (Falconer, 1989):

$$\Delta F = 1/(2N_e) = 1/(8N_m) + 1/(8N_f)$$

kjer  $N_e$  označuje efektivno velikost populacije,  $N_m$  število moških živali in  $N_f$  število ženskih živali, ki prispevajo svoje gene k naslednji generaciji potomcev.

#### 4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Starši za oblikovanje  $F_1$  generacije so izhajali iz dvosmerno selekcioniranih linij kokoši na večjo (D+) oziroma manjšo (D-) telesno maso pri osmih tednih starosti. Povprečne telesne mase v D+ in D- liniji, računane po metodi najmanjših kvadratov so prikazane v preglednici 1. Petelinčki iz linije D+ so pri 55. dneh starosti povprečno tehtali 3006,92 g, kar je za 2152,68 g več kot petelinčki iz linije D-, ki so v povprečju tehtali 854,24 g. Jarčke iz linije D+ so v povprečju tehtale 2540,10 g in bile za 1829,16 g težje od jarčk iz linije D-, ki so v povprečju tehtale 710,94 g. Tako petelinčki kot tudi jarčke, ki so bili selekcionirani na večjo telesno maso, so bili po 25. generacijah dvosmernega selekcijskega poskusa za 3,5 krat težji od svojih sovrstnikov v liniji selekcionirani na manjšo telesno maso. Starši v generaciji  $F_0$  so v paraleli A v povprečju tehtali 1846,8 g, v paraleli B pa 1687,6 g. Njihovi  $F_1$  potomci so v paraleli A v povprečju tehtali 1649,4 g, v paraleli B pa 1544,0 g. V obeh paralelah so bili torej  $F_1$  potomci lažji od povprečja svojih staršev. Ena od možnih razlag za ta rezultat je pojav negativnega heterozisa, čeprav je potrebno biti v primeru naših rezultatov dokaj previden, saj gre za sklepanje na osnovi zelo majhnega števila  $F_1$  živali. Heterozis je nekakšen dobiček, dodatek, ker smo pri živalih uspeli združiti gene dveh linij tako, da se učinek genov ni samo seštel (aditivni učinek), ampak bomo zaradi ugodnega medsebojnega učinkovanja genov (dominanca, interakcija) priredili več. Če heterozis izrazimo kot odklon povprečja potomcev od povprečja njihovih staršev, potem je le ta v paraleli A znašal  $[((1649,4 \text{ g} - 1846,8 \text{ g})/1846,8 \text{ g}) \times 100 = - 10,68 \text{ \%}]$  v paraleli B pa  $[((1544,0 \text{ g} - 1687,6 \text{ g})/1687,6 \text{ g}) \times 100 = - 8,50 \text{ \%}]$ . Pri pitovnih piščancih je heterozis za telesno maso pri enem tednu starosti blizu vrednosti nič, kasneje se postopno povečuje in doseže 2 do 10 %, ko so piščanci stari 8 do 10 tednov (Fairfull, 1990). Čeprav je heterozis ponavadi pozitivna vrednost, obstaja več raziskav, ko so znanstveniki v primeru križanja dveh, v telesnih masah precej različnih linij kokoši, zabeležili negativni heterozis (npr. Jull in Quinn, 1931, cit. po Liu in sod., 2003; Maw, 1935, cit. po Liu in sod., 1993). Negativni heterozis je bil izračunan tudi pri križanju dveh, na telesno maso divergentno selekcioniranih linij prepelic (Darden in Marks, 1989, cit. po Liu in sod., 1993).



Razlika med recipročnimi  $F_1$  križanci v telesni masi pri 55. dnevu starosti ni bila statistično značilna ( $P \geq 0,05$ ). Če bi bila, bi jo lahko pripisali genetskim in/ali negenetskim dejavnikom. Genetska dejavnika vključujeta spolno vezane gene in maternalne učinke. Če se bi razlike v telesni masi pri 55. dnevu starosti pojavile le pri enem spolu, bi to lahko pripisali spolno vezanim genom, če pa bi se pojavile pri obeh spolih, bi vzrok zanje iskali v maternalnih učinkih. Korelacije med maso valilnega jajca in maso izvaljenega piščanca lahko odražajo maternalne učinke (Wilson, 1991). Te korelacije običajno izginejo en teden po izvalitvi piščanca (Barbato in sod., 1983, cit. po Liu in sod., 1993; Katanbaf in sod., 1988, cit. po Liu in sod., 1993). To je verjetno tudi razlog, zakaj v našem primeru, navkljub temu, da so se  $F_1$  piščanci v A paraleli valili iz težjih jajc kot piščanci v B paraleli, pri 55. dnevu starosti nismo zabeležili več nobenih maternalnih učinkov.

Preglednica 1: Spreminjanje telesnih mas živali pri 55. dnevu starosti po posameznih generacijah

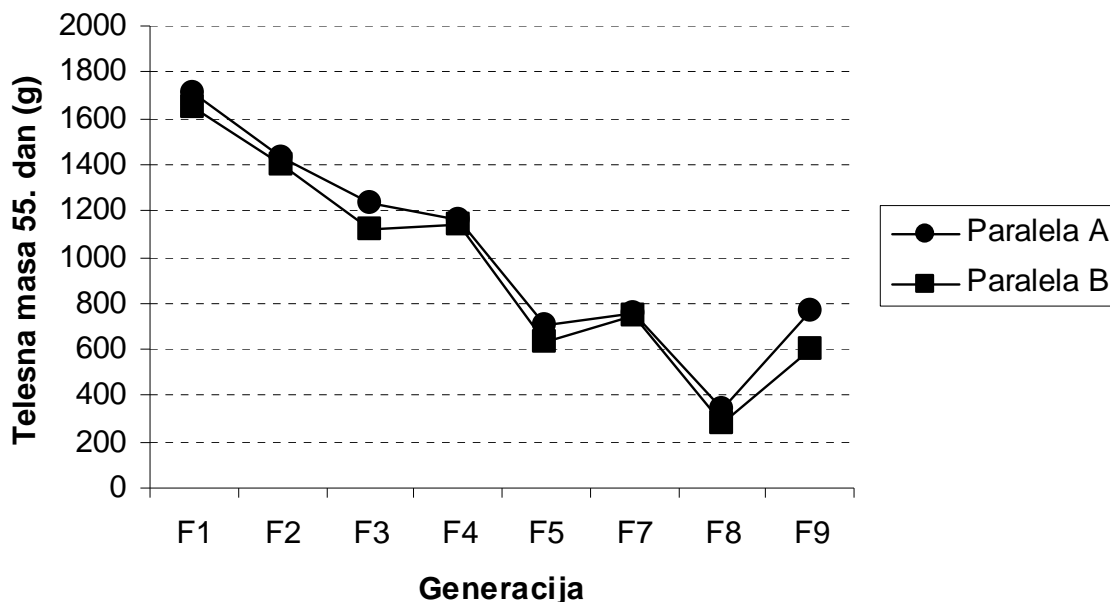
GENERACIJA	PARALELA	SPOL	ŠTEVILO ŽIVALI	LSM ± SE
F <sub>0</sub>	Linija D+	♂	170	3006,92 ± 15,69
		♀	172	2540,10 ± 15,48
	Linija D-	♂	145	854,24 ± 18,38
		♀	138	710,94 ± 17,98
F <sub>1</sub>	A	♂	10	1846,45 ± 58,38
		♀	9	1582,62 ± 66,47
	B	♂	5	1877,0 g ± 57,12
		♀	4	1410,00 ± 50,97
F <sub>2</sub>	A	♂	67	1601,75 ± 23,16
		♀	68	1255,80 ± 23,47
	B	♂	28	1529,15 ± 34,65
		♀	21	1261,94 ± 40,32
F <sub>3</sub>	A	♂	34	1301,83 ± 23,75
		♀	42	1158,90 ± 21,66
	B	♂	28	1226,33 ± 39,63
		♀	49	1011,64 ± 31,86
F <sub>4</sub>	A	♂	36	1299,64 ± 32,01
		♀	22	1014,59 ± 41,97
	B	♂	27	1249,49 ± 39,08
		♀	22	1028,99 ± 37,91
F <sub>5</sub>	A	♂	30	777,50 ± 45,08
		♀	61	640,32 ± 25,71
	B	♂	24	727,06 ± 35,20
		♀	34	544,13 ± 26,03
F <sub>6</sub> – 69. dan <sup>a</sup>	A	♂	63	1485,54 ± 27,82
		♀	56	1178,76 ± 30,79
	B	♂	53	1342,32 ± 36,51
		♀	53	1100,56 ± 36,11
F <sub>7</sub>	A	♂	33	844,53 ± 23,04
		♀	90	669,02 ± 13,52
	B	♂	33	783,18 ± 22,77
		♀	49	713,78 ± 18,90
F <sub>8</sub>	A	♂ + ♀ <sup>b</sup>	99	342,17 g; (std=141,00)
	B	♂ + ♀ <sup>b</sup>	56	276,25 g; (std=76,53)
F <sub>9</sub>	A	♂	241	803,54 ± 11,30
		♀	225	724,84 ± 11,64
	B	♂	41	647,74 ± 23,74
		♀	58	557,72 ± 21,82

<sup>a</sup> živali so bile tehtane 69. dan starosti

<sup>b</sup> spola pri 55. dnevu starosti ni bilo mogoče določiti

LSM ± SE = tehtana srednja vrednost ± standardna napaka

Na sliki 11 je prikazano spreminjanje povprečnih telesnih mas piščancev v paralelah A in B po posameznih generacijah.



Slika 11: Spreminjanje telesnih mas piščancev pri 55. dnevu starosti od F<sub>1</sub> do F<sub>9</sub> generacije

Opazno je stalno zmanjševanje telesnih mas od F<sub>1</sub> do F<sub>8</sub> generacije, v F<sub>9</sub> generaciji pa povečanje glede na predhodno F<sub>8</sub> generacijo (slika 11). Eden izmed vzrokov za padanje telesnih mas v obeh paralelah je lahko parjenje v sorodstvu (inbriding). Znotraj obeh paralel je potekalo zaprto parjenje med relativno majhnim številom živali, ki so vodile poreklo od dveh skupnih prednikov. To pomeni, da se je znotraj obeh paralel pojavilo parjenje v sorodstvu. Za populacijo rečemo, da je proizvod parjenja v sorodstvu takrat, ko je verjetnost, da potomci podedujejo dve genski kopiji skupnega izvora večja, kot bi jo pričakovali v primeru naključnega parjenja znotraj dane populacije. To verjetnost imenujemo koeficient inbridinga (Falconer, 1989). Spreminjanje % inbridinga po posameznih generacijah, paralelah in družinah je prikazano v preglednicah 2 do 5. Pri perutnini je merjenje koeficienta inbridinga zelo težavno, saj s podatki o popolnem rodovniku ponavadi ne razpolagamo.

Zato smo približek povečanja koeficienta inbridinga v eni generaciji parjenj znotraj zaprte populacije izračunali na osnovi efektivne velikosti populacije, to je tistega dela članov populacije, ki je dejansko sodeloval pri reprodukciji. Izračuni temeljijo na predpostavki, da sta bili izhodiščni ( $F_0$ ) živali nesorodni s koeficientom inbridinga 0.

Preglednica 2: Spreminjanje % inbridinga v posameznih generacijah paralele A

PARALELA A – DRUŽINA A-1					
GENERA -CIJA	OČETJE ( $N_m$ )	MATERE ( $N_f$ )	POTOMCI	INBRIDING NA GENERACIJO (V %)	KUMULATIVNI INBRIDING (V %)
0	1	1	/	/	/
1	1	9	19	13,89	25
2	1	12	141	13,54	38,89
3	1	12	133	13,54	52,43
4	4	25	64	3,63	65,97
5	5	31	112	2,90	69,60
6	8	40	150	1,88	72,50
7	7	55	140	2,01	74,38
8	9	50	247	1,64	76,39
9			473		78,03

Preglednica 3: Spreminjanje % inbridinga v posameznih generacijah paralele B (družina B-1)

PARALELA B – DRUŽINA B-1					
GENERA -CIJA	OČETJE ( $N_m$ )	MATERE ( $N_f$ )	POTOMCI	INBRIDING NA GENERACIJO ( $\Delta F$ )	KUMULATIVNI INBRIDING ( $F_t$ )
0	1	1	/	/	/
1	1	4	11	15,63	25
2	1	11	58	13,64	40,63
3	2	15	135	7,08	54,26
4	2	14	52	7,14	61,34
5	2	7	37	8,04	68,49
6	3	21	57	4,76	76,52
7	3	13	45	5,13	81,29
8	2	8	83	7,81	86,41
9			73		94,23

Preglednica 4: Spreminjanje % inbridinga v posameznih generacijah paralele B (družina B-2)

PARALELA B – DRUŽINA B-2					
GENERA CIJA	OČETJE ( $N_m$ )	MATERE ( $N_f$ )	POTOMCI	INBRIDING NA GENERACIJO ( $\Delta F$ )	KUMULATIVNI INBRIDING ( $F_t$ )
0	1	1	/	/	/
1	1	4	11	15,63	25
2	1	11	58	13,64	40,63
3	2	15	135	7,08	54,26
4	1	6	19	14,58	61,34
5	3	16	46	4,95	75,93
6	4	20	68	3,75	80,88
7	4	23	45	3,67	84,63
8	4	16	155	3,91	88,29
9			26		92,20

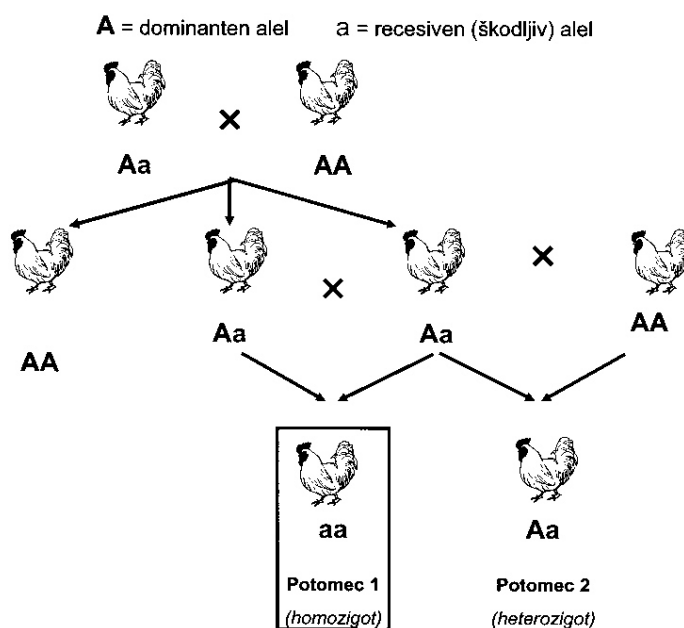
Preglednica 5: Odstotek inbridinga ( $\Delta F$ ) v posameznih generacijah in povprečje za vse generacije obeh paralel

GENERACIJA	PARALELA A - DRUŽINA A-1	PARALELA B – DRUŽINA B-1	PARALELA B – DRUŽINA B-2
1 do 2	13,89	15,63	15,63
2 do 3	13,54	13,64	13,64
3 do 4	13,54	7,08	7,08
4 do 5	3,63	7,14	14,58
5 do 6	2,90	8,04	4,95
6 do 7	1,88	4,76	3,75
7 do 8	2,01	5,13	3,67
8 do 9	1,64	7,81	3,91
<b>Povprečje</b>	<b>6,63</b>	<b>8,65</b>	<b>8,40</b>

Stopnje povečanja inbridinga po posameznih generacijah so bile največje od 1. do 2. in od 2. do 3. generacije (preglednica 5), nato pa so se v naslednjih generacijah postopno ustalile. V družini A-1 je prišlo do velikega povečanja inbridinga tudi od 3. do 4. generacije, v družini B-2 pa od 4. do 5. generacije križanj.

Povprečne stopnje inbridinga znašajo 6,63 % (paralela A-družina A-1), 8,65 % (paralela B-družina B-1) in 8,40 % (paralela B-družina B-2), kar ustreza naslednjim efektivnim velikostim populacij: 7,5 (paralela A-družina A-1), 5,7 (paralela B-družina B-1) in 5,9 (paralela B-družina B-2).

Povprečni koeficient inbridinga se lahko giblje v razponu od 0 do 100 % — v slednjem primeru bi bili vsi osebki določene populacije homozigotni za alele, ki so skupnega izvora. Parjenje v sorodstvu povečuje delež homozigotov. Zaradi povečanja frekvence homozigotov za recesivne alele z negativnim učinkom na fitnes, se z nadaljevanjem parjenj v sorodstvu zmogljivost povprečnega fenotipa za poljubno lastnost v populaciji zmanjšuje (slika 12). Z depresijo zaradi inbridinga, kot strokovno imenujemo ta padec, lahko pojasnimo upadanje povprečnih telesnih mas pri 55. dnevu starosti vse do F<sub>8</sub> generacije križanj.



Vsaka žival ima dve kopiji (alela) kateregakoli gena (en alel dobi od očeta drugega od matere). Inbriding povečuje homozigotnost (verjetnost, da bosta alela kateregakoli gena identična in izhajala od skupnega prednika). Potomec 1 je nastal s parjenjem v sorodstvu (njegova starša sta brat in sestra) in je nosilec dveh kopij alela »a« (homozigot), ki jih je podedoval od skupnega prednika (starega starša). Potomec 2 ni rezultat parjenj v sorodu in je nosilec alelov »A« in »a« (heterozigot). V homozigotnem stanju (potomec 1 - identičen alel podedovan od očeta in matere) pridejo do izraza nekateri recesivni geni z neželenimi učinki na zdravje in proizvodnost živali.

Slika 12: Parjenje v sorodstvu (inbriding) (Inbreeding Depression, 2009)

Pri vseh udomačenih vrstah perutnine so študije pokazale, da ima inbriding za posledico poslabšanje proizvodnih lastnosti, še zlasti plodnosti in življenjske odpornosti (fitnesa). V perutninarstvu je bilo dokazano, da lahko oblikujemo in tudi ohranjamo linije pri koeficientu inbridinga, ki presega 95 %. V praksi se inbridirane linije koristijo tudi za pridobivanje komercialnih križancev, čeprav v takih linijah inbriding redko preseže vrednost 70 % (Abplanalp, 1973).

Meritve klavnih lastnosti so izvajali v F<sub>3</sub> generaciji (paralela A), F<sub>4</sub> generaciji (paralela B), F<sub>7</sub> generaciji (obe paraleli) in F<sub>9</sub> generaciji (obe paraleli). Zaradi številčne šibkosti paralele B in potreb po starših za oblikovanje naslednje generacije, so v F<sub>4</sub> in F<sub>7</sub> generaciji znotraj paralele B klali v glavnem samo višek petelinov. Primerjava klavnih lastnosti med petelini posameznih generacij znotraj paralel A in B je prikazana v preglednicah 6 in 7.

Preglednica 6: Primerjava telesne mase in klavnih lastnosti petelinov med F<sub>3</sub> in F<sub>7</sub> generacijo modela križanj FSIL v paraleli A

LASTNOST	F <sub>3</sub> (n = 36 ♂)		F <sub>7</sub> (n = 22 ♂)		F <sub>3</sub> - F <sub>7</sub>
	POVPREČJE (g) ± STD	KV (%)	POVPREČJE (g) ± STD	KV (%)	
Telesna masa 55. dan	1316,47 ± 175,03	13,29	832,27 ± 118,29	14,21	484,2 (-36,7 %) <sup>1</sup>
Masa vranice	1,91 ± 0,42	22,32	1,44 ± 0,32	22,46	0,47 (-24,6 %)
Masa srca	6,08 ± 0,93	15,40	4,22 ± 0,71	16,88	1,86 (-30,5 %)
Masa trebušne maščobe	22,54 ± 7,19	31,93	6,02 ± 4,60	76,50	16,52 (-73,2 %)
Masa klavnega trupa	913,88 ± 131,99	14,44	565,68 ± 88,44	15,63	348,2 (-38,10 %)
Masa beder	249,49 ± 37,75	15,13	144,45 ± 35,35	24,47	105,04 (-42,1 %)
Masa mišičnine prsi	145,95 ± 25,75	17,64	70,10 ± 21,17	30,20	75,85 (-51,9 %)
Masa stopal	63,47 ± 8,72	13,75	51,27 ± 6,48	12,65	12,2 (-19,2 %)

STD = standardna deviacija (odklon)

KV = koeficient variabilnosti

<sup>1</sup> Odstotek zmanjšanja vrednosti lastnosti v F<sub>7</sub> generaciji glede na F<sub>3</sub> generacijo

Ker se je z vsako naslednjo generacijo ponavljajočih naključnih križanj povprečna telesna masa živali pred zakolom zmanjševala, je razumljivo, da so se, zaradi pozitivnih fenotipskih korelacij, tudi vrednosti za klavne lastnosti zmanjševale. V primerjavi z F<sub>3</sub> generacijo je v F<sub>7</sub> generaciji paralele A telesna masa pred zakolom padla za 36,7 %, masa klavnega trupa za 38,1 %, masa trebušne maščobe pa kar za 73,2 % (preglednica 6). Podobni trendi so opazni v paraleli B, kjer je v primerjavi z F<sub>4</sub> generacijo telesna masa pred zakolom v F<sub>7</sub> generaciji padla za 35,2 %, masa očiščenih klavnih trupov za 38,1 % in masa trebušne maščobe za 62,2 % (preglednica 7).



Preglednica 7: Primerjava telesne mase in klavnih lastnosti petelinov med F<sub>4</sub> in F<sub>7</sub> generacijo modela križanj FSIL v paraleli B

LASTNOST	F <sub>4</sub> (n = 16 ♂)		F <sub>7</sub> (n = 22 ♂)		F <sub>4</sub> - F <sub>7</sub>
	POVPREČJE (g) ± STD	KV (%)	POVPREČJE (g) ± STD	KV (%)	
Telesna masa 55. dan	1225,93 ± 181,01	14,76	793,86 ± 118,82	14,96	432,07 (-35,2 %) <sup>1</sup>
Masa vranice	2,06 ± 0,54	26,34	1,28 ± 0,34	26,63	0,78 (-37,8 %)
Masa srca	6,25 ± 1,01	16,24	4,31 ± 0,78	18,29	1,94 (-31,0 %)
Masa trebušne maščobe	8,30 ± 5,60	67,51	3,13 ± 3,39	108,34	5,17 (-62,2 %)
Masa klavnega trupa	892,81 ± 115,75	12,96	552,04 ± 87,26	15,80	340,77 (-38,1 %)
Masa beder	238,70 ± 49,98	20,94	150,14 ± 24,18	16,11	88,56 (-37,1 %)
Masa mišičnine prsi	125,81 ± 22,57	17,94	67,63 ± 17,09	25,27	58,18 (-46,2 %)
Masa stopal	65,15 ± 9,35	14,35	48,28 ± 6,43	13,33	16,87 (-25,8 %)

STD = standardna deviacija (odklon)

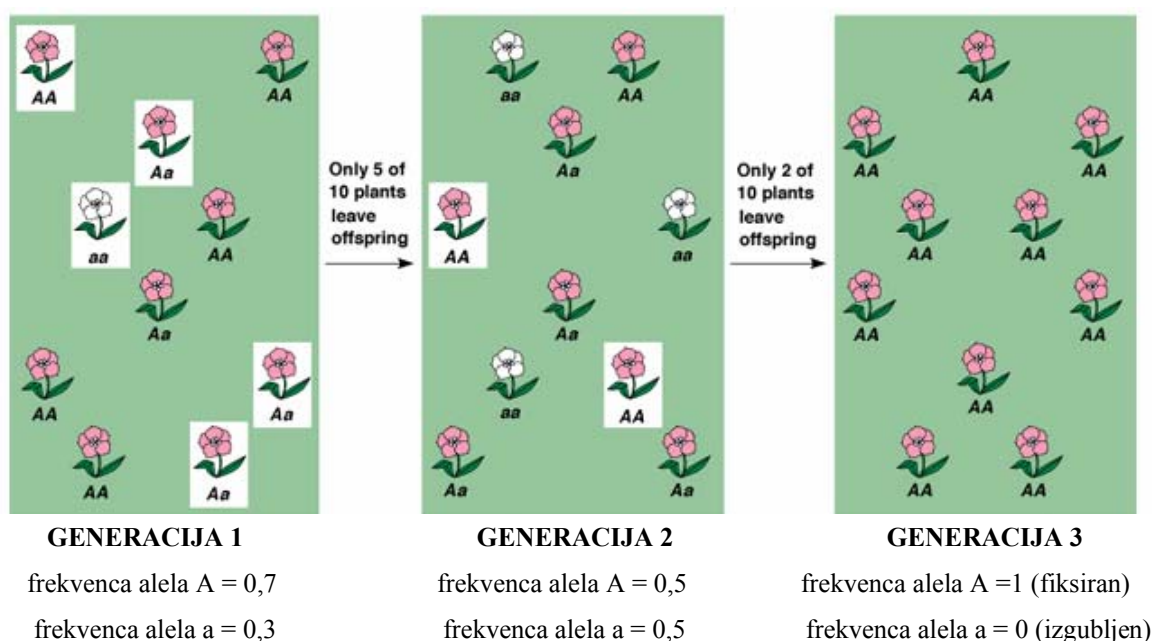
KV = koeficient variabilnosti

<sup>1</sup> Odstotek zmanjšanja vrednosti lastnosti v F<sub>7</sub> generaciji glede na F<sub>4</sub> generacijo

Koeficient variabilnosti, ki prikazuje razpršitev vrednosti lastnosti okoli aritmetične sredine njihove statistične populacije je bil za veliko večino lastnosti večji v F<sub>7</sub> kot v F<sub>3</sub> oziroma F<sub>4</sub> generaciji (preglednici 6 in 7). Vzrok za to je lahko zopet parjenje v sorodstvu, ki samo po sebi — na prvi pogled paradoksalno — povečuje fenotipsko variabilnost, če fenotip heterozigota seveda ni zunaj območja vrednosti dane lastnosti, razpete med obema homozigotoma oziroma, če ne prihaja do tako imenovane overdominance. Vzrok je lahko ta, da z izločanjem heterozigotov, se pravi tistih z bolj ali manj srednjimi vrednostmi pri lastnostih, v populaciji ostaja večji delež homozigotov, ki pa so nosilci bolj skrajnih fenotipov.

Varianca v povsem inbridirani populaciji je natanko dvakrat večja od tiste, ki bi jo izračunali za populacijo, v kateri so paritve docela naključne. Če bi veljali le aditivni učinki genov, bi torej fenotipska varianca naraščala sorazmerno s stopnjo inbridinga.

Drugi razlog za povečanje variabilnosti bi lahko bil naključni genetski zdrs (angl.: *genetic drift*) (slika 13). Gre za pojav, ko se v manjši populaciji, kakršni sta sestavljali paraleli A in B, z dvema aleloma (npr. »A« in »a«) lahko zgolj po naključju zgodi, da se v gamete, ki vstopajo v razmnoževanje, vključi le alel »A« — alel »a« je od tega trenutka naprej v populaciji izgubljen, za alel »A«, ki zdaj nima več "konkurenta", pa pravimo, da se je utrdil ali fiksiral. Na dolgi rok ta pojav sicer zmanjšuje variabilnost v populaciji, saj se prej ali slej eden od alelov fiksira, v vmesnem času, pred fiksacijo, ko se genetski zdrs odvija, pa ni nujno, da se variabilnost le zmanjšuje; v določenem obdobju se nujno celo povečuje, ko sta na primer oba alela — novi in stari — okoli polovične frekvenca ( $A=a=0,5$ ).



Slika 13: Genetski zdrs (drift) (Genetic Drift, 2009)

Tretji razlog je lahko relativno večja občutljivost visoko inbridiranih populacij na okoljske dejavnike. To lahko povečuje fenotipsko variabilnost znotraj inbridirane, genetsko

homogene populacije, kar opažajo pri visoko inbridiranih linijah poskusnih živali (laboratorijske miši in podgane).

Primerjava dveh sistemov parjenj in sicer parjenj med nesrodnimi osebki, ki zakriva recesivne škodljive alele in parjenj med sorodnimi osebki, ki te škodljive alele izpostavi na površje kaže, da bi morale biti v inbridiranih populacijah frekvence škodljivih alelov manjše, kajti tam je njihova eliminacija učinkovitejša in hitrejša.

V populaciji, ki se sprva pari naključno in nato preide na parjenje v sorodstvu, bi na začetku te druge faze ugotovili precejšnjo depresijo zaradi inbridinga, pozneje pa se visoka povprečna sposobnost spričo odstranjenosti nekaterih škodljivih recesivnih alelov poveča (Falconer, 1989). S tem dejstvom lahko pojasnimo dvig povprečnih fenotipskih vrednosti piščancev v  $F_9$  z ozirom na  $F_8$  generacijo. Še bolj verjetna razlaga za omenjen dvig bi lahko bili okoljski dejavniki. Primerjava povprečnih vrednosti za telesno maso pri 55. dnevu starosti (slika 11) namreč kaže, da je vrednost te lastnosti iz generacije v generacijo »nihala«. Glede na to, da so bila nihanja v obeh paralelah istosmerna (enkrat v obeh paralelah navzgor, drugič v obeh paralelah navzdol) gre glavni vzrok zanje iskati v okoljskih dejavnikih. V času trajanja poskusa so se namreč živali valile v različnih letnih obdobjih, zaradi česar niso mogli zagotoviti povsem enakega okolja za zrejo piščancev v vseh generacijah poskusa.

Recipročni učinki oziroma recipročne razlike so razlike med križanci dveh pasem/linij, pri katerih ena linija/pasma nastopa enkrat kot očetovska drugič pa kot maternalna (npr.  $D+\text{♂} \times D-\text{♀}$  vs.  $D+\text{♀} \times D-\text{♂}$ ). V komercialni prireji perutninskega mesa in jajc so recipročni učinki zelo pomembni. Rejci dobro vedo, da se lahko križanci med petelinom pasme A in kokošjo pasme B v proizvodnosti precej razlikujejo od križancev med kokošmi iz pasme A in petelini iz pasme B. Recipročni učinki so posledica spolno vezanih genov (genov vezanih na spolni kromosom Z) in maternalnih učinkov (Liu in sod., 1993). Maternalni učinki so lahko posledica genetskih razlik genov vezanih na spolni kromosom W, razlik v mitohondrialni DNA ali drugih genetskih razlik, ki imajo za posledico razlike v velikosti,

obnašalnih lastnosti ipd. matere. Značilnost mitohondrijskih kromosomov je, da se dedujejo le po materi. Dedovanje le po enem od staršev je tudi značilnost W-kromosoma, ki določa ženski spol in se deduje le po materi.

Preglednica 8: Primerjava telesnih mas in klavnih lastnosti med paralelama A in B v zadnji (F<sub>9</sub>) generaciji modela ponavljajočih naključnih križanj

LASTNOST	PARALELA A (F <sub>9</sub> ) (♂=241; ♀=225)		PARALELA B (F <sub>9</sub> ) (♂=41; ♀=58)		RAZLIKA (A – B)	P- VRED- NOST <sup>1</sup>
	♂	♀	♂	♀		
Telesna masa 1. dan (g)	♂	36,87 ± 0,16	♂	38,10 ± 0,43	-1,23	0,036
	♀	36,84 ± 0,17	♀	37,04 ± 0,40	-0,2	0,583
Telesna masa 55. dan (g)	♂	804,60 ± 10,93	♂	652,34 ± 27,99	152,26	0,0001
	♀	724,94 ± 11,28	♀	555,51 ± 25,96	169,43	0,0001
Telesna masa 82. dan (g)	♂	1626,86 ± 18,31	♂	1400,34 ± 47,15	226,52	0,0001
	♀	1336,69 ± 18,92	♀	1149,31 ± 43,73	187,38	0,0002
Masa vranice (g)	♂	2,30 ± 0,03	♂	2,08 ± 0,08	0,22	0,005
	♀	2,06 ± 0,03	♀	1,90 ± 0,07	0,16	0,008
Masa srca (g)	♂	7,24 ± 0,07	♂	6,24 ± 0,20	1,00	0,0001
	♀	6,10 ± 0,08	♀	5,26 ± 0,19	0,84	0,0003
Masa trebušne maščobe (g)	♂	47,24 ± 1,14	♂	17,44 ± 2,96	29,80	0,0001
	♀	46,77 ± 1,18	♀	20,61 ± 2,76	26,16	0,0001
Masa klavnega trupa (g)	♂	1113,95 ± 15,08	♂	925,01 ± 38,86	188,94	0,0001
	♀	922,81 ± 15,59	♀	809,07 ± 36,28	113,74	0,0039
Masa beder (g)	♂	162,64 ± 1,88	♂	139,92 ± 4,86	22,72	0,0001
	♀	130,31 ± 1,95	♀	112,65 ± 4,51	17,66	0,0016
Masa mišičnine prsi (g)	♂	149,79 ± 2,56	♂	134,75 ± 6,61	15,04	0,052
	♀	130,31 ± 2,65	♀	119,78 ± 6,13	10,53	0,191
Masa stopal (g)	♂	36,70 ± 0,29	♂	32,25 ± 0,75	4,45	0,0001
	♀	26,13 ± 0,30	♀	23,13 ± 0,69	3,00	0,0001

<sup>1</sup>P≥0,05= statistično neznačilno; P≤0,05=statistično značilno; P≤0,01=visoko statistično značilno;

P≤0,001= visoko statistično značilno

Preglednica 9: Primerjava telesnih mas pri 55. dnevu starosti med paralelama A in B v F<sub>2</sub> in F<sub>9</sub> generaciji modela ponavljajočih naključnih križanj

GENERACIJA		PARALELA A		PARALELA B	RAZLIKA (A – B)	P- VREDN- OST <sup>1</sup>
F <sub>2</sub>	♂	1601,75 ± 23,16	♂	1529,15 ± 34,65	72,60	0,083
	♀	1255,80 ± 23,47	♀	1261,94 ± 40,32	6,14	0,810
F <sub>9</sub>	♂	804,60 ± 10,93	♂	652,34 ± 27,99	152,26	0,0001
	♀	724,94 ± 11,28	♀	555,51 ± 25,96	169,43	0,0001

<sup>1</sup>P ≥ 0,05 = statistično neznačilno; P ≤ 0,05 = statistično značilno; P ≤ 0,01 = visoko statistično značilno; P ≤ 0,001 = visoko statistično značilno

Vrednotenje morebitnih fenotipskih razlik med recipročnimi križanci (t.j. paralela A, paralela B) smo opravili ločeno po spolu, da bi lahko ugotovili vzrok za morebiten učinek. Ker smo s klavnimi lastnostmi za oba spola in obe paraleli razpolagali le v F<sub>9</sub> generaciji, smo to analizo opravili v tej generaciji (preglednica 8), dodatno, samo za telesno maso pri 55. dnevu starosti pa tudi v F<sub>2</sub> generaciji (preglednica 9). Ena od zanimivejših ugotovitev je ta, da je bil recipročni učinek za telesno maso pri 55. dnevu starosti neznačilen v F<sub>2</sub> generaciji (preglednica 9), medtem ko je bil za to lastnost in tudi večino klavnih lastnosti v F<sub>9</sub> generaciji visoko značilen in to pri obeh spolih. Če je enak učinek opažen tako pri moških kot tudi pri ženskih živalih najverjetneje odraža maternalni učinek ali genetske razlike v mitohondrijski DNA (Park in sod., 2006). Segregacija QTL-ov na Z kromosomu bi povzročila recipročni učinek samo pri moških živalih, kar se je zgodilo v primeru mase živali ob izvalitvi. Pri ostalih lastnostih kažejo recipročna križanja enak vzorec pri moških in ženskih živalih, zato so najverjetnejši vzrok zanje ali maternalni učinki ali razlike v mitohondrijski DNA. Maternalni učinki niso najboljša razlaga, saj v telesni masi en dan starih jarčk med paralelama ni bilo značilnih razlik, kar pomeni, da gre najverjetneje za razlike v mitohondrijski DNA.

Velikost linearne povezanosti med telesno maso živali pred zakolom in nekaterimi klavnimi lastnostmi smo v F<sub>9</sub> generaciji izrazili s Pearsonovim koeficientom korelacije. V obeh paralelah smo izračunali veliko pozitivno odvisnost med telesno maso živali pri 82. dnevu starosti in merjenimi klavnimi lastnostmi.

Največjo pozitivno povezanost je telesna masa živali pred zakolom kazala z maso očiščenih klavnih trupov in maso beder (preglednica 10). Ta odvisnost je bila dokaj blizu popolni (funkcijski) odvisnosti 1, ki pa jo je v praktičnem preizkušanju odvisnosti skoraj nemogoče izračunati, saj na posamezno odvisno spremenljivko vpliva praviloma več dejavnikov, med njimi tudi slučajni vplivi. Srednje močna odvisnost je obstajala med telesno maso živali pred zakolom in maso trebušne maščobe.

Preglednica 10: Pearsonovi koeficienti korelacije<sup>1</sup> med telesno maso živali pri 82. dnevu starosti in nekaterimi klavnimi lastnostmi v F<sub>9</sub> generaciji

LASTNOST	PARALELA A (F <sub>9</sub> )	PARALELA B (F <sub>9</sub> )
	Telesna masa 82. dan	Telesna masa 82. dan
Masa vranice	0,61	0,75
Masa srca	0,78	0,78
Masa trebušne maščobe	0,53	0,55
Masa klavnega trupa	0,99	0,98
Masa beder	0,97	0,98
Masa mišičnine prsi	0,91	0,90
Masa stopal	0,84	0,78

<sup>1</sup> vsi prikazani koeficienti korelacije so visoko statistično značilni ( $P \leq 0,001$ )

Poznavanje korelacij je pomembno, ker korelacije povzročajo soodvisne odzive na selekcijo. Ta soodvisnost je posledica delovanja istih genov na večje število lastnosti (pleiotropija), zato se s spremembo ene lastnosti spremenijo tudi druge, od nje soodvisne lastnosti. Glede na stopnjo in predznak povezave bi se z morebitno selekcijo piščancev na telesno maso pri 82. dnevu starosti bolj ali manj povečevale tudi vrednosti za klavne lastnosti v populaciji.

## 5 SKLEPI

Na osnovi raziskave, katere osnovni namen je bil ovrednotiti spreminjanje telesnih mas in klavnih lastnosti piščancev v devetih generacijah modela naključnih parjenj piščancev, lahko izluščimo naslednje sklepe:

- a) V  $F_1$  generaciji se je pojavil negativni heterozis za telesno maso živali pri 55. dnevu starosti. Če heterozis izrazimo kot odklon povprečja potomcev od povprečja njihovih staršev, potem je le ta v paraleli A znašal - 10,68 % v paraleli B pa - 8,50 %.
- b) Recipročno križanje ni bistveno vplivalo na rast piščancev v  $F_1$  generaciji saj razlika med recipročnimi  $F_1$  križanci v telesni masi na 55. dan starosti ni bila statistično značilna ( $P \geq 0,05$ ).
- c) Parjenje v sorodstvu (inbriding) je lahko eden od vzrokov za padanje telesnih mas pri 55. dnevu starosti od  $F_1$  do  $F_8$  generacije v obeh paralelah. Sorazmerno s padanjem telesne mase so se zmanjševale tudi mase klavnih delov.
- č) Koeficient variabilnosti je bil za večino merjenih lastnosti večji v kasnejših generacijah križanj. Vzroka za povečanje variabilnosti v poznejših generacijah sta lahko inbriding in/ali genetski zdrs.
- d) Razlike v posameznih telesnih masah oziroma klavnih lastnostih recipročnih križancev so bile statistično značilne v zadnji (deveti) generaciji križanj in to pri obeh spolih. Na osnovi dobljenih rezultatov je mogoče omenjene genetske razlike pripisati razlikam v mitohondrijski DNA, ki se deduje samo po materini strani.
- e) Največjo pozitivno povezanost s telesno maso živali pred zakolom (82. dan starosti), izraženo s korelacijskim koeficientom, je pričakovano kazala masa očiščenega klavnega trupa (0,98-0,99) najmanjšo pa masa trebušne maščobe (0,53-0,55).



## 6 POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil zbrati in ovrednotiti meritve telesnih mas in klavnih lastnosti piščancev, ki so bile opravljene v različnih generacijah modela križanj FSIL. Na Oddelku za zootehniko Biotehniške fakultete so iz dveh linij piščancev, ki sta bili skozi 25 generacij selekcionirani na večjo (D+) oziroma manjšo (D-) telesno maso pri osmih tednih starosti, vzeli štiri izhodiščne živali in jih medsebojno recipročno križali, da so prišli do F<sub>1</sub> križancev. Vsa nadaljnja križanja so izvajali v skladu s tako imenovanim modelom FSIL, ki temelji na ponavljajočih naključnih križanjih iz generacije v generacijo. Poskus so zaključili, ko so pridobili F<sub>9</sub> generacijo in na njej opravili zahtevane meritve. Z namenom proučitve recipročnih učinkov parjenj so križanja izvajali v dveh ločenih paralelah: A in B. V paraleli A je F<sub>0</sub> oče izhajal iz linije D+, F<sub>0</sub> mati iz linije D-, v paraleli B pa ravno obratno, F<sub>0</sub> oče je izhajal iz linije D-, F<sub>0</sub> mati pa iz linije D+.

V vsaki generaciji so živali tehtali pri 55. dnevu starosti. Na podlagi primerjave rezultatov za telesne mase v posameznih generacijah smo ugotovili, da se je telesna masa pri 55. dnevu starosti zmanjševala od F<sub>1</sub> do vključno F<sub>8</sub> generacije, v F<sub>9</sub> pa se je povečala glede na predhodno F<sub>8</sub> generacijo. Glavni vzrok za zmanjševanje povprečne telesne mase iz generacije v generacijo gre pripisati parjenju v sorodstvu (inbridingu) in njegovemu negativnemu vplivu na proizvodne lastnosti, še zlasti na plodnost in življenjsko odpornost (fitnes). Medgeneracijska nihanja, ki so bila istosmerna v obeh paralelah gre pripisati okoljskim dejavnikom. V času trajanja poskusa so se namreč živali valile v različnih letnih obdobjih, zaradi česar niso mogli zagotoviti povsem enakega okolja za zrejo piščancev v vseh generacijah poskusa.

Stopnje povečanja inbridinga po posameznih generacijah so bile največje od 1. do 2. in od 2. do 3. generacije, nato so se v naslednjih generacijah postopno ustalile. Povprečna stopnja inbridinga je v paraleli A – družina A-1 znašala 6,63 %, v paraleli B je v družini B-1 znašala 8,65 %, v družini B-2 pa je povprečna stopnja inbridinga znašala 8,40 %.

Meritve klavnih lastnosti so izvajali v  $F_3$  generaciji (paralela A), v  $F_4$  generaciji (paralela B), v  $F_7$  generaciji (obe paraleli) in  $F_9$  generaciji (obe paraleli). Zaradi številčne šibkosti paralele B in potreb po starših za oblikovaje naslednje generacije, so v  $F_4$  in  $F_7$  generaciji znotraj paralele B klali v glavnem samo višek petelinov. Tako kot se je iz generacije v generacijo zmanjševala povprečna telesna masa živali pred zakolom, so se, zaradi pozitivnih fenotipskih korelacij, zmanjševale tudi vrednosti za klavne lastnosti.

Koeficient variabilnosti je bil za veliko večino lastnosti večji v  $F_7$  kot v  $F_3$  oziroma v  $F_4$  generaciji. Vzrok za to je lahko zopet parjenje v sorodstvu, ki samo po sebi povečuje fenotipsko variabilnost, in sicer tako, da z izločanjem heterozigotov, se pravi tistih z bolj ali manj srednjimi vrednostmi pri lastnostih, v populaciji ostaja večji delež homozigotov, ki pa so nosilci bolj skrajnih fenotipov. Drugi morebitni razlog za povečanje variabilnosti je lahko naključni genetski zdrs.

Morebitne recipročne učinke, ki so posledica spolno vezanih genov in maternalnih učinkov smo izračunali za  $F_9$  generacijo. Za telesno maso pri 55. dnevu starosti in večino klavnih lastnosti so bili recipročni učinki v  $F_9$  generaciji visoko statistično značilni in to pri obeh spolih. Če je enak učinek opažen tako pri moških kot pri ženskih živalih, gre najverjetneje za maternalni učinek ali genetske razlike v mitohondrijski DNA.

V  $F_9$  generaciji smo med telesno maso živali pred zakolom in nekaterimi klavnimi lastnostmi izračunali veliko stopnjo korelacije. To povezanost smo izrazili s Pearsonovim koeficientom korelacije. Poznavanje korelacij je pomembno, ker korelacije povzročajo soodvisne odzive na selekcijo.

Rezultati meritev telesnih mas in klavnih lastnosti piščancev, ki so obdelani v tem diplomskem delu bodo genetikom služili kot podlaga za ugotavljanje morebitnih značilnih povezav med izraženostjo lastnosti na fenotipskem nivoju in variabilnostjo na DNA nivoju

oziroma za odkritje regij na kromosomih, ki kažejo velik vpliv na izražanje obravnavanih lastnosti.

## 7 VIRI

- Abplanalp H. 1973. Inbreeding for the genetic analysis and improvement of poultry populations. Department of Avian Science, University of California, Davis, California. [www.poultryscience.org/pba/1952-2003/.../1973%20Abplanalp.pdf](http://www.poultryscience.org/pba/1952-2003/.../1973%20Abplanalp.pdf) (16. jul. 2009)
- Advanced Intercross Line. LG/J and SM/J Mouse Intercross Populations. The Cheverud Lab, Department of Anatomy & Neurobiology, University in St. Louis, Washington. <http://thalamus.wustl.edu/cheverudlab/images/LGxSM2Large.jpg> (16. jul. 2009)
- Albers G.A.A., Rattink A.P, Vereijken A.L.J. 2006. The future of molecular genetics in poultry breeding. V: XII European Poultry Conference, Verona, Italy, 10. - 15. sept. 2006. <http://www.docstoc.com/docs/2599801/The-future-of-molecular-genetics-in-poultry-breeding> (16. jul. 2009)
- Buyts N., Van den Abeele G., Stinckens A, Deley J., Georges M. 2006. Effect of the IGF2-intron3-G3072A mutation on prolificacy in sows. V: 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Brazil, 13. - 18. avg. 2006. Comm. No. 06-22
- Carlborg Ö., Kerje S., Schütz K., Jacobsson L., Jensen P., Andersson L. 2003. A global search reveals epistatic interaction between QTL for early growth in the chicken. *Genome Research*, 13: 413-21
- Cheng H.H. 2003. Selection for disease resistance: molecular genetic techniques. V: Poultry genetics, breeding and biotechnology. Muir W.M., Aggrey S.E. (eds.). Wallingford, CABI Publishing: 385-398
- Cockett N.E., Medrano J.F. 1995. Development and use of the sheep genome map. V: Biotechnology's role in the genetic improvement of farm animals. XX Beltsville symposia in agricultural research, Beltsville, 14-17 maj 1995. Miller R.H., Pursel V.G., Norman H.D. (eds.). Savoy, Illinois, American Society of Animal Science: 81-90
- Darvasi A., Soller M. 1995. Advanced intercross lines, an experimental population for fine genetic mapping. *Genetics*, 141: 1199-1207
- De Koning D.J., Dekkers J.C.M., Haley C.S. 2003. Designs for QTL detection in livestock and their implications for MAS. V: Conference Marker-assisted Selection: A Fast Track to Increase Genetic Gain in Plant and Animal Breeding? Session II. MAS in Animals. Conference of the FAO Biotechnology Forum Molecular marker-assisted selection as a potential tool for genetic improvement of crops, forest trees, livestock and fish in developing countries, University of Turin, Italy, 17. - 18. okt. 2003. [www.fao.org/biotech/docs/DeKoning.pdf](http://www.fao.org/biotech/docs/DeKoning.pdf) (16. jul. 2009)

- Dekkers J. C. M. 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of Animal Science*, 82: 313-328
- Dekkers J., Rothschild M. 2007. New tools to make genetic progress. London Swine Conference – Today's Challenges... Tomorrow's Opportunities 3-4 April 2007. [www.londonswineconference.ca/.../2007/LSC2007\\_JDekkers.pdf](http://www.londonswineconference.ca/.../2007/LSC2007_JDekkers.pdf) (16. jul. 2009)
- Drobnič K. 2009. Ugotavljanje identitete posameznika z uporabo genetskih informacij, metode verižne reakcije s polimerazo in računalniško podprte tehnologije. Ministrstvo za notranje zadeve Republike Slovenije, Policija, Center za forenzične preiskave. [www.zrss.si/bzid/geni/pdf/drobnic-clanek.pdf](http://www.zrss.si/bzid/geni/pdf/drobnic-clanek.pdf) (16. jul. 2009)
- Etches R.J. 2001. From Chicken Coops to Genome Maps: Generating Phenotype from the Molecular Blueprint. *Poultry Science*, 80: 1657–1661
- Fairfull R.W. 1990. Heterosis. V: *Poultry breeding and genetics*. Crawford R.D (ed.). Amsterdam, Elsevier: 913-934
- Falconer D.S. 1989. *Introduction to quantitative genetics*. 3 ed. Harlow, UK, Longman: 320 str.
- Genealogical DNA test. SNP markers. Wikipedia. [http://en.wikipedia.org/wiki/Genealogical\\_DNA\\_test](http://en.wikipedia.org/wiki/Genealogical_DNA_test) (16. jul. 2009)
- Genetic Drift. Evolution. Department of Biology, College of Arts and Sciences, University of Miami. <http://www.bio.miami.edu/~cmallery/150/evol/23x4.jpg> (16. jul. 2009)
- Genetic Markers. National Banana Research Program. [http://www.banana.go.ug/images/p013\\_1\\_02.jpg](http://www.banana.go.ug/images/p013_1_02.jpg) (16. jul. 2009)
- Ikeobi C.O.N., Woolliams J.A., Morrice D.R., Law A., Windsor D., Burt D.W., Hocking P.M. 2002. Quantitative trait loci affecting fatness in the chicken. *Animal Genetics*, 33: 428-435
- Inbreeding Depression. Understanding Evolution. University of California Museum of Paleontology. <http://evolution.berkeley.edu/evosite/relevance/images/snakealleles.gif> (16. jul. 2009)
- Kearsey M.J., Farquhar A.G.L. 1998. QTL analysis in plants; where are we now? *Heredity*, 80: 137–142. <http://www.nature.com/hdy/journal/v80/n2/abs/6885001a.html> (16. jul. 2009)
- Liu G., Dunnington E.A., Siegel P.B. 1993. Maternal effects and heterosis for growth in reciprocal cross populations of chickens. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 110: 423-428

- Lynch M., Walsh B. 1997. Genetics and analysis of quantitative traits. Sunderland, Sinauer Associates: 979 str.
- Mackay T.F.C. 2001. Quantitative trait loci in *Drosophila*. *Nature Reviews Genetics*, 2: 11-20
- Mantey C., Brockmann G.A., Kalm E., Reinsch N. 2005. Mapping and exclusion mapping of genomic imprinting effects in mouse F<sub>2</sub> families. *Journal of Heredity*, 96, 4: 329-338
- Masle S. 2007. Multistage QTL mapping strategy in an advanced backcross cattle population. Doctoral Dissertation. Munich, Institute for Animal Breeding, Faculty of Veterinary Medicine of the Ludwig-Maximilians-University: 94 str.
- Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., Goddard, M.E. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157: 1819-1829
- Mozdziak P.E., Petite J.N. 2004. Status of transgenic chicken models for developmental biology. *Developmental Dynamics*, 229: 414-421
- Park H.B., Jacobsson L., Wahlberg P., Siegel P.B., Andersson L. 2006. QTL analysis of body composition and metabolic traits in an intercross between chicken lines divergently selected for growth. *Physiological Genomics*, 25: 216-223
- Ronin Y., Korol A., Shtemberg M., Nevo E., Soller M. 2003. High-resolution mapping of quantitative trait loci by selective recombinant genotyping. *Genetics*, 164, 4: 1657-1666
- SAS/STAT User's Guide. GLM-VARCOMP. 1990. Version 6, Volume 2. Cary, SAS Institute: 1135-1194
- Short T. H., Rothschild M.F., Southwood O.I., McLaren D.G., de Vries A., van der Steen H., Eckardt G.R., Tuggle C.K., Helm J., Vaske D.A., Mileham A.J., Plastow G.S. 1997. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *Journal of Animal Science*, 75 : 3138-3142
- Song J.Z., Soller M., Genizi A. 1999. The full-sib intercross line (FSIL): a QTL mapping design for outcrossing species. *Genetical Research*, 73: 61-73
- Tanksley S.D., Nelson J.C. 1996. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 92: 191-203
- Terčič D. 2004. Kartiranje kvantitativnih lokusov za rast pri linijah kokoši (*Gallus domesticus*), selekcioniranih na večjo oziroma manjšo telesno maso. Doktorska disertacija. Domžale, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 263 str.

- Terčič D., 2009a. »Determiniranost kvantitativnih lastnosti«. Domžale, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko (osebni vir, 16. jul. 2009)
- Terčič D., 2009b. »Model križanj FSIL«. Domžale, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko (osebni vir, 16. jul. 2009)
- Terčič D., Horvat S., Holcman A. 2005. Chicken pedigree for QTL mapping at the University of Ljubljana. V: Proceedings. Working group 3, Breeding and Genetics. World's Poultry Science Association, Croatian Branch: 1
- Van Arendonk J.A.M., Bovenhuis H. 2003. Designs and methods to detect QTL for production traits based on mapped genetic markers. V: Poultry genetics, breeding and biotechnology. Muir W.M., Aggrey S.E. (eds.). Wallingford, CABI Publishing: 439-464
- Van der Werf J. 2000. Basics of linkage and gene mapping. V: Identifying and incorporating genetic markers and major genes in animal breeding programs. Belo Horizonte, Brasil, 31. maj - 5. jun. 2009.  
<http://www-personal.une.edu.au/~jvanderw/brazilcourse.html> (16. jul. 2009)
- Van Laere A.S., Nguyen M., Braunschweig M., Nezer C., Colette C., Moreau L., Archibald A., Haley C., Buys N., Tally M., Andersson G., Georges M., Andersson L. 2003. A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature*, 424: 832-836
- Weller J.I., Kashi Y., Soller M. 1990. Power of »daughter« and »granddaughter« designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 73: 2525-2537
- Wilson H.R. 1991. Interrelationships of egg size, chick size, posthatching growth and hatchability. *World's Poultry Science Journal*, 47: 5-19

## **ZAHVALA**

Moja največja zahvala gre mentorju prof. dr. Simonu Horvatu in somentorju as. dr. Dušanu Terčiču za vso pomoč, strokovne nasvete in vzpodbudo pri nastajanju diplomske naloge.

Prav tako se zahvaljujem prof. dr. Antoniji Holcman za hitro in strokovno recenzijo naloge ter predsedniku komisije doc. dr. Silvestru Žgur za končni pregled.

Hvala tudi dr. Nataši Siard za oblikovni pregled in ga. Karmeli Malinger za lektoriranje angleškega izvlečka.

Zahvaljujem se ga. Sabini Knehtl za njeno prijaznost in pomoč tekom študija.

Nenazadnje pa gre neizmerna zahvala vsem domačim in prijateljem, ki so mi tekom študija stali ob strani in potrpežljivo prenašali moj, vsake toliko nemogoč, značaj. Hvala.





UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Barbara SIVEC

**ANALIZA PODATKOV O TELESNIH MASAH IN  
KLAVNIH LASTNOSTIH PIŠČANCEV V DEVETIH  
GENERACIJAH NAKLJUČNIH PONAVLJAJOČIH  
KRIŽANJ**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2009