

## Genomic enhanced estimation breeding value – a new tool for improving dairy cattle quality

Jędraszczyk J., The Malopolskie Biotechnology Centre Ltd.

Traditionally used programs for breeding estimation (estimated breeding value, EBV) are based on the selection index. These programs are accurate and reliable but time and costs consuming. Bovine genome has been sequenced in 2009. Basing on the acquired information, Marker Assisted Selection (MAS), in cattle breeding program was prepared. It can be applied either for bull calves for testing program or for heifers for flushing. Genotyping of young animals has the best accuracy within the population regardless from the age, sex, pedigree or from progeny performance. It was assumed that genomic enhanced estimation breeding value (GEBV) is 20-35% more accurate than the traditional evaluation. The combination of both methods may additionally increase the reliability of 5-10%. The aim of this article was to present the concept of currently introduced programs of cattle breeding.

**Keywords:** genomic estimation, breeding value, cattle.

W 2009 r. międzynarodowy zespół 300 badaczy z 25 krajów doniósł o zsekwencjonowaniu genomu bydła (*Bos taurus*). Wyniki badań zostały opublikowane w tygodniku Science z 24 kwietnia 2009 r. (1). Wzorcem gatunku była krowa rasy hereford nazywająca się Dominnete 01449. Badania trwały 6 lat i kosztowały 53 mln dolarów. Okazało się, że genom bydła składa się z 3 mld par zasad. Zawiera on ponad 22 tys. genów, spośród których 14 tys. jest takich samych, jak u wszystkich gatunków ssaków. Około 80% genów bydła jest takich samych, jak u człowieka. Bydło ma też około tysiąc genów występujących u psów i gryzoni, ale nieobecnych u człowieka.

## Genomowa wartość hodowlana nowym narzędziem w doskonaleniu bydła mlecznego

Jarosław Jędraszczyk

z Małopolskiego Centrum Biotechnologii Sp. z o.o. w Krasnem

Warto się zastanowić nad znaczeniem tej informacji w codziennej praktyce hodowlanej. Czy informacja ta już dzisiaj może w sposób praktyczny przyczynić się do poprawy cech użytkowych bydła, a jeśli tak, to jak praktycznie korzystać z tej wiedzy. Teoria genetyki populacji zakłada, że cechy użytkowe zwierzęcia są uwarunkowane działaniem wielu hipotetycznych genów o sumujących się efektach. Informacja genetyczna zawarta jest w genach rozmieszczonych na 30 chromosomach, zapisana za pomocą 3 mld nukleotydów stanowiących swoisty kod. Kodo wi temu dzisiaj jeszcze trudno przypisać precyzyjnie funkcję, określić jego początek i koniec, odczytując tym samym zawartą w nim informację.

Obecnie stosowana jest, między innymi w selekcji bydła, metoda obliczeniowa BLUP (best linear unbiased prediction), co oznacza najbliższą liniową nieobciążoną predykcję (2). Metoda ta pozwala obliczyć wartość hodowlaną na podstawie wyników oceny wartości użytkowej skorygowanych o wpływ środowiska, w którym żyje zwierzę. Ogromny postęp, jaki nastąpił w ostatnich kilkudziesięciu latach, zakładając, że ta tradycyjna metoda oceny oparta jest tak naprawdę o sumę przeciętnych genów, których liczby, poszczególnych efektów i lokalizacji nie znamy, może budzić podziw dla ludzi, którzy wprowadzili ją w życie we wczesnych latach dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku. Dzisiejsze

programy genetycznego doskonalenia bydła mlecznego w wielu krajach zakładają, że ocena wartości hodowlanej prowadzona jest co najmniej dwa, a zwykle trzy razy do roku, dla podlegających ocenie wartości użytkowej cech produkcji mleka, cech typu i budowy oraz cech funkcjonalnych. Zwykle wartości te przedstawiane są w postaci indeksu selekcyjnego, który służy jako podstawowe narzędzie do bezpośredniego porównywania buhajów i krów, szeregowania ich w formie rankingu, a dla prowadzących program stanowi kryterium selekcyjne.

Obecnie formuła polskiego indeksu hodowlanego dla rasy polskiej holsztyńskofryzyskiej wygląda następująco:

$$PF = 0,5 \times PI\_PROD + 0,3 \times PI\_POKR + 0,1 \times PI\_PŁOD + 0,1 \times WH\_KSOM$$

Gdzie:

PF – produkcja, funkcjonalność,

PI\_PROD – podindeks produkcyjny,

PI\_POKR – podindeks pokrojowy,

PI\_PŁOD – podindeks płodności,

WH\_KSOM – wartość hodowlana dla zawartości komórek somatycznych w mleku.

Podstawą selekcji krów i buhajów jest wybór zwierząt o najwyższej wartości hodowlanej przeznaczonych do dalszej hodowli, czyli często o najwyższych indeksach dla danej cechy. Ocena wartości hodowlanej jest dokonywana co najmniej dwa razy w roku, a jej wyniki są wykorzystywane do

prowadzenia prac hodowlanych. Wyniki te są podstawą do:

- 1) wyboru krów na matki buhajów,
- 2) wyboru buhajów na ojców buhajów,
- 3) wyboru krów na matki krów (przeznaczonych do dalszej hodowli),
- 4) wyboru buhajów na ojców krów.

Taki tradycyjny schemat postępowania w przypadku buhajów wymaga około 6 lat od momentu wyboru rodziców następnego pokolenia do komercyjnego wykorzystania buhaja na podstawie oceny uzyskanej na jego córkach. Warto zaznaczyć, że o ile czołowe buhaje wybierane na ojców z rankingów światowych cechują się bardzo wysoką powtarzalnością oceny, sięgającą nawet 90%, o tyle dla matek buhajów i ogólnie krów poddawanych ocenie wartości użytkowej uzyskuje się o wiele niższą powtarzalność oceny wartości hodowlanej sięgającą maksymalnie 40–45%. Różny jest także wpływ każdego z rodziców na uzyskiwany postęp genetyczny. Ocenia się, że to wybór ojca ma największy wpływ na postęp, podczas gdy wpływ matki określa się na około 30%.

Taki tradycyjny model oceny na podstawie potomstwa jest dokładny, ale kosztowny, gdy uwzględnia się całą drogę od zaplanowania kojarzeń poprzez zakup buhajka do stacji, czas testowania, oczekiwania na ocenę i wreszcie komercyjne wykorzystanie nasienia. Tańszą metodą jest wykorzystywanie w selekcji informacji zawartych w rodowodach przodków i ich wartości hodowlanej, tzw. pedigree index. Informację tę wykorzystuje się, prowadząc programy selekcyjne w populacjach zbyt małych do prowadzenia tradycyjnej oceny, pamiętając, że cechuje ją najniższa powtarzalność dla cech użytkowych na poziomie 25–35%. Od dawna zastanawiano się, jak obniżyć koszty, zwiększając postęp poprzez przyspieszenie momentu uzyskiwania informacji o wartości zwierząt. Można do tego wykorzystać markery genetyczne, które z roku na rok zyskują na znaczeniu w programach hodowlanych bydła. W kilku krajach rozpoczęto realizację programów selekcji bydła mlecznego wspomaganą markerami – MAS (Marker Assisted Selection). Selekcja wspomaganą markerami jest metodą selekcji, która opiera się na wykrywaniu w genomie obszarów nazywanych QTL (Quantitative Trait Loci) odpowiedzialnych za pewną część zmienności genetycznej danej cechy stanowiącej przedmiot selekcji.

Czym jest marker genetyczny? Jest to fragment DNA, który ma stałą i unikatową (niepowtarzalną) pozycję w genomie, występuje w wielu wariantach i dziedziczy się w przewidywalny sposób, zgodnie z prawami Mendla, w kolejnych pokoleniach. Dzisiaj rolę markerów spełnia SNP, czyli polimorfizm podstawień nukleotydowych, których układ zmienia się pomiędzy

osobnikami danego gatunku. Ze względu na dużą częstość SNP (tzw. snipów) oraz ich dość równomierne rozproszenie w genomie, mogą one zostać użyte do kontroli zmienności genomu, która może zostać odczytana za pomocą względnie tanich technik laboratoryjnych – SNP typing. Za pomocą takich badań przesiewających cały genom bydła, czyli wszystkie chromosomy zidentyfikowano obecnie ponad 50 tys. markerów reprezentujących regiony o różnym wpływie na daną cechę. Marker służy do oznakowania konkretnego miejsca genomu w celu śledzenia jego przekazywania w rodzinach, co w hodowli bydła ma duże znaczenie. Jeśli w pobliżu markera leży inny gen o dużym wpływie na cechę użytkową (tzw. gen główny), oznacza to, że marker i ów nieznany gen będą razem podlegały dziedziczeniu. W ten sposób marker z dużym prawdopodobieństwem pozwala przewidzieć dziedziczenie genu głównego, a zatem genetyczną wartość cechy użytkowej. Obecnie efekty takich markerów sumuje się za pomocą modeli statystycznych i w rezultacie otrzymuje się tzw. bezpośrednią genomową wartość hodowlaną, która reprezentuje efekt genetyczny dla wszystkich cech (DGV-direct genomic value) i jest niezależna od metody tradycyjnej. Większą wiarygodność uzyskuje się dla cech z dużym współczynnikiem odziedziczalności, jak produkcja mleka, który sięga 70%, a niższy dla takich cech, jak płodność, które osiągają wartości poniżej 50%. Wyniki zwykle prezentuje się w postaci indeksu, nawiązując do formuły obowiązującej w danym kraju.

Wszystkie zespoły, które rozpoczęły tego typu badania rozpoczynały od utworzenia banku DNA. Bank to przede wszystkim materiał genetyczny izolowany od buhajów posiadających ocenę wartości hodowlanej na córkach z wysoką powtarzalnością. Im więcej będzie buhajów, tym tworzona w ten sposób baza stanowić będzie bardziej wiarygodne i rzetelne źródło informacji do obliczeń. Buhaje z bazy po genotypowaniu stanowią tzw. bazę referencyjną do obliczeń genomowej wartości hodowlanej dla osobników tego samego gatunku w obrębie tej samej populacji niezależnie od wieku, płci, informacji rodowodowej i użyteczności własnej lub użyteczności określonej na podstawie oceny potomstwa. Wśród krajów realizujących taki program należy wymienić USA, Kanadę, Francję, Niemcy, Holandię, Polskę, kraje skandynawskie, Irlandię, Australię i Nową Zelandię. Obserwuje się tendencję do łączenia wyników i tworzenia zespołów, czyli próby łączenia baz tworzonych w tych krajach. Należy zaznaczyć, że nieokreślono optymalnej wielkości takiej bazy. Niektóre z krajów dysponują bazą zawierającą kilka tysięcy buhajów, a inne niewiele ponad

tysiąc, co uzależnione jest od wielkości programu hodowlanego, dostępności materiału od buhajów dzisiaj już nieużywanych lub kosztów utrzymania samego banku. Warto zaznaczyć, że w niektórych krajach, pomimo dużej liczby buhajów w bazie, ciągle nie udaje się uzyskać satysfakcjonujących wyników i przedstawione obliczenia obarczane są dużymi błędami. Niezależnie od wielkości bazy dostępne dzisiaj mikromacierze w formie czipów mogą mapować 54 tys. SNP, co oczywiście nie odzwierciedla 100% informacji na temat wartości genomowej. Jaka będzie przyszłość i ile snipów zostanie odkrytych w przyszłości, trudno dzisiaj określić. Powstają już nowe macierze zawierające kilkaset tysięcy SNP, co niewątpliwie przyczyni się do wzrostu wiarygodności tej oceny.

Aby zwiększyć wiarygodność oceny, łączy się dzisiaj genomową wartość hodowlaną z tradycyjną szacowaną wartością hodowlaną wolną od informacji genomowej (estimated breeding value – EBV) otrzymując kombinację obu tych wartości w postaci genomowo wzbogaconej oceny wartości hodowlanej (genomic enhanced estimation breeding value – GEBV). Porównując wszystkie dostępne metody szacowania wartości hodowlanej, można stwierdzić, że genomowa wartość hodowlana daje wiarygodność wyceny o 20–35% wyższą niż wartości obliczone na podstawie rodowodu. Kombinacja genomowej wartości i tradycyjnego szacowania podwyższa wiarygodność o dodatkowe 5–10%.

Jak wspomniano, także w Polsce podjęto prace zmierzające do wprowadzenia tej metody do rutynowej praktyki hodowlanej. Już w 2004 r. przy Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie powstał Polski Bank DNA Buhajów, w którym gromadzone są próbki DNA pozyskane od buhajów ze wszystkich krajowych spółek inseminacyjnych, a także od wielopokoleniowych rodzin buhajów, umożliwiając genotypowanie buhajów i ich potomstwa. Obecnie określono już genotyp ponad 1200 polskich buhajów, co stanowi podstawę krajowego banku DNA i krajową bazę referencyjną. W trakcie są obliczenia statystyczne prowadzące do określenia tego nowego typu wartości hodowlanej. Takim narzędziem, będącym połączeniem informacji genomowej i obserwacji fenotypowych, pozwalające na określenie efektów poszczególnych SNP są równania predykcji. Pierwsze wyceny już się pojawiają. Mają one obecnie charakter naukowy, lecz wkrótce mogą stać się podstawą do praktycznego wdrożenia, tak aby stały się elementem rutynowej oceny wartości hodowlanej bydła holsztyńskofryzyskiego w Polsce. Problemem pozostaje tak zwana walidacja wyników, czyli potwierdzenie wiarygodności genomowej wartości hodowlanej na osobnikach spoza

populacji referencyjnej. Słabe spokrewnienie nowych osobników ocenianych z populacją referencyjną może znacznie obniżyć dokładność genomowej wartości hodowlanej. Dlatego istotne jest ciągłe rozszerzanie tej populacji i reestymacja efektów markerów, aby w sposób możliwie wierny odzwierciedlały aktualne sprzężenia między markerami a cechami użytkowymi. Prace nad genomową wartością hodowlaną będą trwałe przez najbliższe kilka lat zanim ten nowy system oceny w pełni zostanie zharmonizowany z oceną tradycyjną i uzyska pełne zaufanie hodowców bydła.

Wśród zalet nowej metody należy wymienić:

1. Możliwość wyceny bardzo młodych zwierząt w sposób bardziej precyzyjny niż na podstawie rodowodów rodziców, co pozwoli kwalifikować buhajki do stacji produkcji nasienia w oparciu o dodatkowe informacje (dokonanie wyboru, np. spośród pełnych braci).
2. Lepszy wybór matek buhajów oraz dawczyń zarodków i wzrost znaczenia jałowek w selekcji.
3. Relatywnie niski koszt genotypowania w porównaniu do tradycyjnej metody

oceny na potomstwie (obecnie koszt genotypowania pojedynczej próby wynosi ok. 250 euro).

4. Możliwość prowadzenia programu selekcji buhajów bez bezpośredniego odniesienia do wielkości populacji krów objętych oceną wartości użytkowej, co dzisiaj limituje liczbę testowanych buhajów.
5. Zwiększenie rocznego postępu genetycznego m.in. poprzez skrócenie odstępów międzypokoleniowego i zwiększenie ostrości selekcji.
6. Wykorzystanie metody do oceny spokrewnienia w populacji lub wykrywania nosicieli defektów genetycznych.

Podsumowując, należy stwierdzić, że selekcja genomowa, która dzisiaj określana jest jako rewolucja w hodowli, wkrótce stanie się standardem, głównie ze względu na przyspieszenie postępu w pracach hodowlanych. Składa się na to znaczne udoskonalenie ścieżki żeńskiej oraz udostępnienie nasienia młodych buhajów bez wyceny na potomstwie, co jeszcze bardziej może przyspieszyć postęp genetyczny. Można oczekiwać, że zmianom ulegną metodyki dotychczasowych programów oceny i selekcji

buhajów, przepisy regulujące hodowlę zarówno europejskie, jak i krajowe, struktury organizacji prowadzących programy hodowlane, jak i marketing oferowanego na rynku nasienia. Z pewnością będzie się obserwować rozwój technologii służących do efektywnego wdrażania tej metody. Podkreślić należy jednak, że metoda ta, wykorzystując dzisiejszą technologię może być najwyżej tak dokładna, jak wycena buhajów na potomstwie, dlatego w najbliższym czasie ocena wartości użytkowej i jej wyniki ciągle będą podstawą do obliczeń wartości hodowlanej uzupełnianej coraz dokładniejszą ocenę genomową.

## Piśmiennictwo

1. Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium: The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. *Science* 2009, **324**, 522-528.
2. Nowicki B., Pawlina E., Kruszyński W., Łoś P.: *Leksykon terminów z zakresu genetyki i hodowli zwierząt*. Polskie Towarzystwo Zootechniczne, Warszawa 1994.

Dr Jarosław Jędraszczyk, Małopolskie Centrum Biotechniki Sp. z o.o. w Krasnem