



Evropski kmetijski sklad za razvoj podeželja: Evropa investira v podeželje

EIP Zmanjševanje izpustov toplogrednih plinov z načrtno odbiro plemenskih svinj in merjascev (1. poročilo)

Špela Malovrh, Sanja Bogičević, Suzana Krhlanko, Anita Ule, Milena Kovač

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Groblje 3, 1230 Domžale

1 UVOD

Izpusti toplogrednih plinov (TGP) se v kmetijstvu skozi leta povečujejo predvsem na račun povečevanja obsega kmetijske proizvodnje. Kmetijstvo je v zadnjem času podvrženo velikim izzivom zaradi podnebnih sprememb in hkrati ima nalogo, da zagotavlja dovolj hrane za naraščajočo svetovno populacijo. To stanje še dodatno otežuje negativno mnenje širše javnosti in posledično tudi vse strožji predpisi ter zakonodaja, ki precej omejujeta kmetovanje. Zato smo tudi v kmetijstvu primorani iskati rešitve, ki bodo pripomogle k zmanjševanju toplogrednih plinov in pri tem lahko pripomore tudi selekcija oz. načrtna odbira.

Prašičereja prispeva 9 % k izpustu TGP od skupnega izpusta TGP iz živinoreje (Cardador in sod., 2020; Kpogo in sod., 2021). Najpomembnejši TGP so ogljikov dioksid (CO_2), metan (CH_4) in didušikov oksid (N_2O). TGP delujejo podobno kot steklo v topli gredi v Zemljinem ozračju zadržujejo sončno toploto, ki se odbija z zemeljskega površja, in preprečujejo njeno uhajanje v vesolje. Zaradi učinka tople grede je temperatura na Zemlji višja, kot bi bila sicer, kar na eni strani omogoča življenje na Zemlji, po drugi strani pa povečevanje TGP v Zemljinem ozračju privede do zviševanja temperature in posledično spreminjanja podnebja.

S selekcijo prašičev se učinkovitost prireje na žival znatno izboljšuje, kar pomeni, da se zmanjšujejo tudi izpusti TGP na kilogram prirejenega mesa. Učinkovitost prireje na žival povečujemo po več poteh. Pri

svinjah želimo povečati prirejo pujskov v njeni življenjski dobi, kar je odvisno od dolgoživosti svinje, velikosti gnezda ob rojstvu, izgub pujskov do odstavitve in maternalnih lastnosti svinje. Pri tekačih in pitancih izboljšujemo pitovne lastnosti, med katere uvrščamo npr. dnevne priraste, izkoriščanje krme in preživetveno sposobnost. Med kriterije selekcije so vključene tudi klavne lastnosti, merjene na živih živalih ali na klavnih polovicah sorodnikov. Lastnosti, ki se vključujejo med selekcijske cilje, so povezane tudi s kakovostjo mesa, saj meso boljše kakovosti postaja vse bolj zanimivo za potrošnika. V sedanjem času pri lastnostih prireje ne težimo več samo k povečevanju, npr. števila živorojenih pujskov, ampak želimo izboljšati hkrati tudi rojstno maso pujskov, da bodo imeli pujski več možnosti za preživetje. Bolj kot doslej postajajo pomembne prilagodljivost, dolgoživost živali ter odpornost na bolezni (Wall in sod., 2010). Nadalje se med selekcijske cilje vključuje tudi izkoriščanje dušika iz krme (Davoudi in sod., 2022), lastnosti počutja, lastnosti obnašanja ter (ne)občutljivost na stres. Obolele ali bolne živali imajo slabšo prirejo, pri njih je več poginov, kar pomeni večjo porabo krme, slabše izkoriščanje krme, uporabo antibiotikov, večje veterinarske stroške, manjšo količino prirejenega mesa in posledično tudi več izpustov TGP.

Pri živali na njeno prirejo vplivata njen genotip ter okolje. Z okoljem zajamemo tako klimatske vplive kot tudi vpliv reje, kar je povezano s tehnologijo, prehrano, ravnanjem z živalmi v sami reji. Vpliv genotipa pa zajema dedni material, ki ga deduje žival od staršev. Pri selekciji rejnih živali izkoriščamo genetske razlike med živalmi in odbiramo tiste, ki v lastnostih, ki so med selekcijskimi cilji, čim bolj pozitivno odstopajo od primerjalne skupine. Razvoj molekularno-genetskih metod nam omogoča vpogled v strukturo genoma prašičev, pomaga pa nam razumeti tudi fiziološke procese v organizmu. Razliko v prireji tako povzročajo poleg tehnologije tudi razlike v dednem materialu. Poznavanje razlik v dednem materialu, ki se odražajo v kvantitativnih lastnostih, omogoča odbiro na želeni genotip. Za določanje lokacije genov z velikim ali srednje velikim učinkom uporabljamo genetske označevalce (*ang. marker*), ki se lahko nahajajo tudi v nekodirajočih regijah, vendar pa se zaradi bližine med lokusom in označevalcem ne prihaja do rekombinacij in se posledično dedujejo skupaj. V kolikor se označevalec nahaja znotraj gena ali v regulatorni regiji v bližini gena, pa ima lahko neposredno vlogo pri delovanju gena. Označevalci so nam v pomoč pri odkrivanju živali tako z zaželenimi lastnostmi kot nezaželenimi lastnostmi npr. občutljivost na stres, dedne bolezni. To metodo odbire živali imenujemo selekcija na osnovi označevalcev (*ang. marker assisted selection*).

Polimorfizem posameznega nukleotida (*ang. single nucleotide polymorphism*, SNP) je različica posameznega nukleotida (Børsting in Morling, 2013), pri kateri se osebk v populaciji razlikujejo tako, da imajo na istem mestu v genomu različen nukleotid. Takih mest je v genomu veliko, vendar vsa ne vplivajo na spremenjeno funkcijo genov. S pomočjo genotipizacije celotnega genoma s SNP-mikromrež pridobimo informacije o nukleotidih, število prebranih mest pa je odvisno od gostote uporabljenega čipa. SNP-i veljajo za glavni vir genetske variabilnosti, ki v veliki meri vpliva na fenotipsko variabilnost znotraj določene vrste (Shastry, 2009), in služijo kot odlični genetski označevalci.

Namen prispevka je ugotoviti frekvence alelov in genotipov za SNP v različnih genih za odpornost na bolezen v slovenski populaciji prašičev. Na podlagi frekvenc bomo pripravili priporočila za uvedbo le-teh v selekcijski program.

2 PREGLED LITERATURE

Genov, ki neposredno zmanjšujejo izpuste TGP, v literaturi še ni opisanih in jih verjetno tudi ne bo, saj so izpusti TGP pri živalih kompleksna lastnost. Posredno pa k zmanjšanju TGP prispevajo vsi geni, povezani s prirejo, zdravjem in odpornostjo živali. Osredotočili smo se na gene z velikim ali srednje velikim učinkom ter označevalce znotraj lokusov kvantitativnih lastnosti (QTL), povezanih z odpornostjo na bolezen. Med takšnimi geni sta gen GBP1 (Abella in sod., 2015) in gen GBP5 na kromosomu 4, ki izboljšujeta odpornost na virus PRRS, ter MUC4 na kromosomu 13 in gen FUT1 na kromosomu 6 (Geraci in sod., 2019), ki vplivata na odpornost na bakterijo *E. coli*.

2.1 Občutljivost na stres

V Sloveniji smo poskusno začeli z direktnim genskim testom na sindrom maligne hipertermije (SMH) v letu 1994 (Šalehar in sod., 1994, 1998). Genske analize so bile izvedene na Oddelku za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Leta 1994 so na farmi Ptuj vzeti vzorci merjascev in je pri vse treh pasmah ugotovljena nizka frekvenca alela P: švedski landras 0,16 %, nemški landras 0,22 % in veliki beli prašič 0,04 % (Šalehar in sod., 1994). Od leta 1995 se je na farmah odvzelo vzorec tkiva vsem merjascem v preizkusu, ki so bili odbrani pri vmesni odbiri 60 kg, genski test na SMH pa se je naredil tistim, ki so bili po končanem preizkusu uvrščeni v kakovostne razrede za pleme (Flisar in sod., 2004). Po preselitvi preizkusa merjascev na kmetije z letom 2004 se je sprva odvzem vzorcev opravljal ob koncu preizkusa, v zadnjem času pa ob naselitvi v preizkus. Tako zajeti vzorec živali ni povsem naključen, kljub temu pa nam daje oceno frekvence alelov in genotipov za prihodnjo generacijo, kot tudi za pregled spreminjanja frekvenc v populaciji skozi čas.

Sindrom maligne hipertermije, znan tudi pod imenom prašičji stresni sindrom (PSS), je avtosomna recesivna presnovna bolezen. Na stres občutljivi prašiči reagirajo na dejavnike stresa s tipičnimi simptomi, ki so: povečanje telesne temperature oz. hipertermija, tresenje, togost mišic, pospešeno dihanje, metabolična acidoza (zakisanje) in povečanje koncentracije ogljikovega dioksida v arterijski krvi ter pordečela koža, lahko pa nastopi tudi smrt (Lahucky in sod., 1997). Znaki pri sesnih pujskih so težje opaženi, pri starejših kategorijah prašičev se lahko sprožijo pri ravnanju s prašiči ter med transportom. Pri prašičih, občutljivih na stres, so večje tudi izgube od rojstva do zakola. SMH je posledica okvarjenega enega proteina kalcijevih kanalčkov v mišicah. Pred molekularno genetskimi testi so gen poimenovali tudi Hal, saj prašiči, občutljivi na stres, reagirajo na anestetik halotan s simptomi maligne hipertermije, kasneje pa je dobil ime RYR1.

Gen RYR1 se pri prašičih nahaja na kromosomu 6 (Davies in sod., 1988) in kodira protein kalcijevih kanalčkov na sarkoplazmatskem retikulumu skeletnih mišic (MacLennan in sod., 1990). Ime RYR1 je dobil zaradi sposobnosti vezave strupenega rastlinskega alkaloida rianodina. Vzrok za SMH je mutacija, kjer nukleotid z dušikovo bazo citozin (C) zamenja nukleotid z dušikovo bazo timin (T), kar se posledično v proteinu odraža v zamenjavi aminokislina arginin v cistein (Fujii in sod., 1991). Kadar je žival recesivni homozigot (PP) ima povsem spremenjen protein kalcijevih kanalčkov, kar povzroči, da se le-ti ne zaprejo pravočasno in se kalcijevi ioni sproščajo nenadzorovano. Posledica je povečana vezava kalcijevih ionov z beljakovino troponin v mišicah, kar povzroči intenzivno krčenje mišic. Tako so recesivni homozigoti (PP) občutljivi na stres in v stresnih situacijah kažejo znake, značilne za SMH, ki so nenadni in lahko privedejo tudi do smrti. Dominantni homozigoti (NN) so bolj odporni na stres, podobno velja za heterozigote (NP), ki pa so prenašalci nezaželenega alela P.

Pri recesivnih homozigotih (PP) mutacija povzroča težave tudi po zakolu (Lefaucheur, 2001), saj povzroči hitro znižanje pH vrednosti mesa in posledično pojava bledega, mehkega in vodenega mesa (BMV) mesa, kar ni zaželeno ne pri mesu za predelavo kot tudi ne pri svežem mesu za prodajo. BMV je posledica aktivnega metabolizma v mišicah po zakolu, spremenjena je tudi maščobna sestava, nižja je vsebnost vitamina E, več je oksidiranih maščob (Lahucky in sod., 1997). Meso takšnih živali ima povečano električno prevodnost, ki kaže na več proste vode v mesu, povečana je izguba tekočine zaradi izceje (Nurnberg in sod., 2002) in povzroči večje izgube pri predelavi. Podobne težave imajo tudi heterozigoti (NP), ki so prenašalci nezaželenega alela P. Razlike se pojavljajo tudi pri vsebnosti intramuskularne maščobe (Otto in sod., 2007), ki je pri dominantnih homozigotih (NN) večja kot heterozigotih (NP), najmanjša pa je pri recesivnih homozigotih (PP).

Merjascev ob koncu preizkusa, ki so recesivni homozigoti (PP), ne odberemo, za heterozigote predlagamo za izločitev, saj okvarjenega gena zaradi prej omenjenih težav ne želimo prenesti v naslednjo generacijo (Šalehar in sod., 1994; Flisar in sod., 2004; Krhlanko in sod., 2021), saj pomenijo gospodarske izgube. Z izločanjem recesivnih homozigotov poleg izboljševanja kakovosti mesa zmanjšujemo preobčutljivosti na stres in povečujemo preživetveno sposobnost, s čimer pa zmanjšujemo izpuste TGP.

2.2 Geni za odpornost na virus PRRS

Prašičji reprodukativni in respiratorni sindrom (PRRS) je gospodarska bolezen, ki je razširjena po vsem svetu, ter povzroča reprodukcijske motnje pri svinjah in respiratorne motnje pri vseh starostnih kategorijah prašičev (Rossow, 1998; Zimmerman in sod., 2011), zaradi česar povzroča rejcem velike ekonomske izgube. Povzroča jo virus iz družine *Arteriviridae*, poznani pa sta dve skupini oz. tipa, in sicer tip PRRSV-1, ki izvira iz Severne Amerike in evropski tip PRRSV-2, ki naj bi se razvijala povsem ločeno (Nelsen in sod., 1999). V Sloveniji je bil prvi znani pojav bolezni PRRS pri prašičih v karanteni v letu 1994, z letom 1995 pa se je pričel monitoring na virus PRRS (Valenčak, 2004). Toplak in sod. (2012) so

ugotovili, da imamo v Sloveniji veliko pestrost različic virusa PRRS, kar pomeni, da so se reje okužile iz zelo različnih virov, kot posledica nakupa prašičev brez poznavanja njihovega statusa glede bolezni.

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

Duan in sod. (2022) so v svoji študiji pokazali, da prekomerno izražanje gena GBP1 znatno preprečuje okužbo z virusom PRRS, medtem ko se ob utišanem (*ang. knockdown*) genu GBP1 virusna okužba bolj razširi. Dokazali so tudi, da gen GBP1 preprečuje okužbo z virusom PRRS in medcelično širjenje, kar bi lahko delno pripisali motnji tvorbe aktinskih filamentov, ki so sestavni del citoskeleta. Nepoškodovana struktura citoskeleta pa je potrebna, da se virusa PRRS znotraj gostitelja učinkovito podvojevanje. V drugi študiji so Koltes in sod. (2015) pokazali, da izguba funkcije GBP5 na modelu utišane gena pri miših povzroči oslABLjeno obrambo gostitelja.

SNP v prej omenjeni regiji, ki so ga Boddicker in sod. (2012) poimenovali WUR10000125 (WUR), je polimorfizem G>A in je v podatkovni zbirki (Martin in sod., 2023) označen z rs80800372. Nahaja se v 3' neprevedeni regiji (3'UTR) gena GBP1 in lahko vpliva na stabilnost prepisa ter posledično na hitrost sinteze beljakovin. Gen GBP1 ima proksimalno in distalno poliadenilacijsko mesto, zaradi česar nastajata dve različni dolžini 3'UTR mRNA prepisa. Alel A daje krajši in stabilnejši prepis, ker se poliadenilacija prekurzorske mRNA začenja na proksimalnem mestu. Za alel G se začenja poliadenilacija mRNA z distalnega mesta, pri tem nastane daljši mRNA prepis (Gol in sod., 2015; Khatun in sod., 2020), ki je manj stabilen, zaradi česar je nižje izražanje mRNA gena GBP1 in boljši T-celični odziv na virus PRRS.

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

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

gena GBP5. Alel G uvaja novo akceptorsko mesto za alternativno izrezovanje, kar povzroči vstavev petih nukleotidov na začetek eksona 10, s čimer se premakne bralni okvir in spremeni prvih 10 aminokislin, ki jih kodira ekson 10, posledično se pojavi zgodnji stop kodon ter skrajšani, nefunkcionalni protein GBP5 (Koltes in sod., 2015). Ta ne more zavirati vstopa in podvojevanja virusa PRRS tako hitro, kot to lahko naredi nepoškodovan GBP5 protein, kar vodi do slabega izida homozigota GG po okužbi z virusom PRRS. Nezaželeni alel G kodira skrajšani, nefunkcionalni GBP5 protein, kar pomeni, da prašiči z GG genotipom proizvajajo nefunkcionalni protein GBP5 ter so občutljivi na virus PRRS. Alel T ima dominanten vpliv na odpornost na virus PRRS. Identificirani so bili trije alternativni prepisi: 1) prepis oz. mRNA divjega tipa (ang. *wild type*), ki ima genotip TT in ohranjeno funkcijo GBP5 proteina, 2) prepis oziroma mRNA z vstavljenimi petimi nukleotidnimi na 5' koncu eksona 10, ki ima alel G, 3) prepis, ki je ohranil intron 9 v mRNA.

Študija Koltes in sod. (2015) je pokazala, da je alel G SNP-a rs340943904 v genu GBP5 v neravnovesju zaradi vezave z nezaželenim alelom A WUR (v genu GBP1) medtem ko je alel T SNP-a rs340943904 v genu GBP5 v neravnovesju zaradi vezave z zaželenim alelom G SNP-a WUR v genu GBP1. Prašiči, ki imajo na GBP1 genotip GG, imajo genotip TT na GBP5 (Jeon in sod., 2021), kar se ujema s študijo Koltes in sod. (2015).

Koltes in sod. (2015) so pokazali, da je bila mRNK gena GBP5 različno izražena v krvi prašičev z genotipom AA SNP-a WUR v genu GBP1 v primerjavi z genotipom AG, merjena 7, 11 ter 14 dni po okužbi z virusom PRRS. Vse genske različice prepisa GBP5 so v neravnovesju zaradi vezave z genom GBP1 in so pokazale alelno specifično izražanje. Uvajanje novega akceptorskega mesta, ki vstavi petih nukleotidov v mRNA gena GBP5 so identificirani pri prašičih z genotipom AA, gena GBP1, vendar je imela veliko manjšo pogostnost pri prašičih z genotipom AG gena GBP1. Prepis divjega tipa je bolj izražen pri prašičih genotipa AG gena GBP1, kot pri genotipu AA gena GBP1. Kar se sklada s študijo Jeon in sod. (2021) da imajo prašiči z GBP1 GG genotipom za GBP5 TT genotip žival z GBP1 AA genotip imajo na GBP5 GG genotip. Za ohranjen intronski zapis niso opazili nobene razlike v izražanju med genotipi gena GBP1. Geraci in sod. (2019) so navedli, da selekcija na odporne alele genov GBP1 in GBP5, vpliva na odpornost na virus PRRS, a ne na lastnosti prireje v okolju brez virusa PRRS.

2.3 Gena za odpornost na seve F4 in F18 bakterije *Echerichia coli*

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

genskih različic F4ab in Fac, najbolj razširjeni sevi, ki povzročajo drisko pri sesnih pujskih (Fontanesi in sod., 2012).

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

SNP rs338992994 v intronu 7 gena *MUC4* je zamenjava C>G in je v neravnovesju zaradi vezave z receptorjem za seve *E. coli*, ki imajo fimbrije F4 z obema antigenskima različicama Fab ali Fac. Alel G tega označevalca je povezan s prisotnostjo receptorja, ki pomeni dovzetnost za drisko pri sesnih pujskih. Alel C je povezan z odsotnostjo receptorja in odpornostjo na seve *E. coli* fimbrije, ki imajo F4. Genotipa GG in CG sta občutljiva na *E. coli*, ker imajo receptor F4, medtem ko je genotip CC odporen na *E. coli*. Mucini igrajo tudi številne druge pomembne vloge pri rasti, razvoju ploda, obnavljanju in diferenciaciji epitelija, celovitosti epitelija, karcinogenezi in metastazah (Fontanesi in sod., 2012), kar kaže na to, da bi lahko bili polimorfizem v genu *MUC4* povezani tudi z drugimi pomembnimi proizvodnimi lastnostmi.

Poodstavitveno drisko povzročajo sevi *E. coli* F18, ki so bolj razširjeni kot sevi *E. coli* F4. Izražanje receptorja F18 uravnava gen *FUT1*, ki se nahaja na kromosomu 6 in spodbuja pritrditev *E. coli* preko fimbrij F18 z antigensko različico ab (ETEC F18ab) (Geraci in sod., 2019). SNP rs335979375 v genu *FUT1* je zamenjava A>G, ki ima za posledico substitucijo na mestu 103 in s tem zamenjavo aminokislina alanin s treoninom ter spremenjeno aktivnost encima alfa (1,2)-fukoziltransferaze 1 (*FUT1*). Ta določa pritrditev *E. coli* F18 in vodi k odpornosti ali občutljivosti epitela črevesja (Bao in sod., 2008; Wang in sod., 2011). Alel A je povezan z odsotnostjo receptorja *E. coli* F18, kar pomeni odpornost živali na drisko po odstavitvi. Živali genotipa AA so odporne na okužbo s sevi *E. coli* F18, živali genotipa AG in GG pa so občutljive na seve *E. coli* F18.

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

3 MATERIAL IN METODE

V analizo smo vključili 2800 vzorcev prašičev sodobnih genotipov in avtohtone pasme. Vzorci so bili zbrani na terenu in poslani v genotipizacijo. Pri prašičih se običajno jemlje tkivo uhlja, za kar se uporabi posebne klešče za jemanje vzorcev. S kleščami odščipnemo košček tkiva uhlja, ki se avtomatsko shrani v vzorčno posodico s konzervansom. Zelo pomembno je, da se ob odvzemu vzorca tkiva prašiča identificira z njegovo ušesno številko ter pravilno označi vzorec. V ta namen na poseben obrazec zapišemo ušesno številko živali in oznako vzorčne posodice, ki omogoča sledljivost vzorca tkiva vse od mesta odvzema, skladiščenja, pošiljanja v laboratorij na genotipizacijo in na koncu do prejema rezultatov.

Z genotipizacijo prašičev smo začeli pri krškopoljskem prašiču in nato pri sodobnih pasmah, hibridih ter križancih. Genotipizacijo je bila opravljena z Gene SeekGenomic Profiler Porcine (GGP) 50KChip za sodobne pasme in z Gene SeekGenomic Profiler Porcine 80KChip pri živalih pasme krškopoljski prašič. Informacija, ki jo pridobimo iz laboratorija, zajema približno 50.697 oz. 68.516 SNP-ov, ki so porazdeljeni po celotnem genomu. Te informacije smo uporabili pri določitvi frekvence genotipov in alelov za SMH in SNP WUR v genu GBP1.

Od leta 2020 naprej podatke o genotipih pridobivamo s pomočjo genotipizacija z čipi 80K in 50K. V analizo smo vključili rezultate za SMH za 2620 živalih z znanim genotipom. Vzorce krškopoljskih prašičev smo začeli pošiljati na genotipizacijo v letu 2020, medtem ko pa smo pri sodobnih pasmah in hibridih z genotipizacijo začeli v drugi polovici leta 2021. Večina vzorcev (1705), pripada pasmi krškopoljski prašič, zbiranje in genotipizacija vzorcev živali je bila odvzeta v sklopu EIP projekta.

Ostale genomske informacije smo pridobili z Gene SeekGenomic Profiler Porcine (GGP) 50KPlusChipa, ki je novejša izboljšana različica čipa 50K in ima dodatnih 200 genov, povezanih s kakovostjo mesa, plodnostjo, z odpornostjo na bolezni ter drugimi proizvodnimi lastnostmi. Rezultate genotipizacije na čipu 50KPlus imamo za 645 vzorcev, ki smo jih genotipizirali po juniju 2022. Te informacije smo uporabili za določitev frekvence genotipov in alelov za SNP v genu GBP5, MUC4 in FUT1.

Pri ugotavljanju kakovosti genotipov in pregledovanju ter čiščenju podatkov smo uporabili prosto dostopni program PLINK verzija 1.9 (Chang in sod., 2015). PLINK je orodje, s pomočjo katerega se lahko izvede analiza celotnega genoma, uporablja se tudi za čiščenje podatkov pod določenimi pogoji (Chang in sod., 2015). Program zahteva poseben zapis v osnovnih datotekah s končnicami *.map* in *.ped*, ki smo jih pripravili z uporabo lastnih makrojev v sklopu statističnega paketa SAS 9.4 (SAS Inst. Inc., 2012) pri pripravi podatkov genotipizacije in sestavljanja genotipov.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Skupno imamo genotipiziranih blizu 2800 živali. Večina vzorcev krškopoljskih prašičev je bila genotipizirana na čipu 80K, del na čipu 50K, medtem ko so bile sodobne pasme in hibridi genotipizirane na 50K

čipu. Omenjena čipa sta vsebovala informacijo (SNP-e), da smo dobili genotipe za gena RYR1 (SMH) in GBP1. Illumina je čip 50K nadgradila v čip 50KPlus, na katerem imamo genotipiziranih 645 vzorcev od junija 2022 naprej. Pri teh vzorcih imamo tako tudi informacijo za SNP-e za gene GBP5, MUC4 in FUT1. SNP-i v genih GBP5 in MUC4 so bili uspešno prebrani za 620 oz. 621 vzorcev, medtem ko SNP za gen FUT1 je bil uspešno prebran v 607 vzorcih.

4.1 Gen za občutljivost na stres

Skupno imamo 2593 uspešno genotipiziranih vzorcev za SMH. Pri obeh maternalnih pasmah je frekvenca genotipa NN 100.0 % Pri slovenskem landrasu je uspešno prebranih 338 vzorcev in 24 vzorcev pri slovenskem velikem belem prašiču (tabela 1). Tudi pri hibridu 12 ni alela P (tabela 2), kar smo pričakovali na osnovi frekvence alela P pri slovenskem landrasu in pri slovenskem velikem belem prašiču. Pred približno 30 leti so Flisar in sod. (2004) so pri maternalnih pasmah navedli frekvenco alela P okrog 12 %, pred 20 leti pod 1 %, medtem ko alela P sedaj ne najdemo več, kar pomeni, da je bila selekcija uspešna. Za maternalne pasme in hibride je zelo pomembno, da niso občutljivi na stres.

Pri živalih terminalnih pasem je frekvenca alela P 6,9 % pri slovenskem mesnatem landrasu, 13,7 % pri pietrenu ter 0,0 % pri duroku (tabela 1). Pred 30 leti pietren še ni bil zelo zastopan kot terminalna pasma, vse živali, za katere je bil opravljen genski test na SMH pa so bile genotipa PP. Pred 20 leti je bil pri živalih pasme pietren frekvenca alela P še zelo velik (77,9 %), saj so bili recesivni homozigoti PP najpogostejši (Flisar in sod., 2004). Za pasmo pietren je bilo to pričakovano, saj je znano, da je bila v preteklosti ta izrazito omišičena pasma, najbolj občutljiva na stres. Sedanji rezultati potrjujejo, da se je frekvenca alela P zmanjšala, kar dokazuje, da je bila selekcija proti genotipu, ki povzroča SMH pri slovenskem mesnatem landrasu in pietrenu uspešna. Rezultati Flisar in sod. (2004) potrjujejo, da je v naši populaciji terminalnih pasem durok najodpornejši na stres, ker alela P niso našli, enako kažejo tudi naši rezultati, saj tudi nismo našli alela P. Zniževanje frekvence alela P za gen RYR1 je odvisno od izločanja recesivnih homozigotov PP in heterozigotov NP. Tako je mogoče sorazmerno hitro zmanjšati frekvenco alela P. To lahko dosežemo z načrtnim parjenjem, ki ga rejcem svetujemo. Pri hibridu 54 je frekvenca alela P 14,4 % (tabela 2), kar se sklada s frekvenco alela P pri pasmah slovenski mesnati landras in pietren. Pri hibridu 43 je bil frekvenca alela P 0 %, imamo pa pri tem genotipu genotipiziranih le 7 živali.

V populaciji krškopoljskih prašičev prevladujejo dominantni homozigoti (NN) (tabela1). Heterozigoti NP, ki so prenašalci alela P gena RYR1, predstavljajo tretjino vseh analiziranih vzorcev pri tej pasmi. Frekvenca alela P je v sedanji populaciji 16,3 %, kar je nekoliko manj, kot sta navedli Krhlanko in Kovač (2021) v predhodnih analizah. Muñoz in sod. (2018) so v raziskavi evropskih avtohtonih pasem prašičev zabeležili frekvenco alela P 21 % pri krškopoljskem prašiču, kar je bilo največ med zajetimi pasmami. Domneva se, da je bil v populacijo krškopoljskih prašičev alel P gena RYR1 vnesen pri oplemenjevanju z drugimi pasmami (Šalehar in sod., 1998). Za povečanje mesnatosti so prašiče krškopoljske pasme po-

nekod parili tudi z mesnatimi pasmami, kot sta nemški landras in pietren (Kastelic, 2008). Povezavo med prisotnostjo mutacije, klavnimi lastnostmi in kakovostjo mesa pri krškopoljskem prašiču in križancih z sodobnimi pasmami so potrdili že Čandek-Potokar in sod. (2003), ki so med analiziranimi vzorci krškopoljskih prašičev zaznali velik delež heterozigotov. V povezavi s prisotnostjo nezaželenega alela P je bil pri čistopasemski prašičih krškopoljske pasme zaznan nižji pH mesa v prvi uri po zakolu, kot je značilno pri ostalih pasmah. Takšno znižanje pH vpliva na mehkobo mesa kljub večji vsebnosti intramuskularne maščobe, ki je značilna za pasmo.

4.2 Gena za odpornost na virus PRRS

Skupno imamo med genotipiziranimi vzorci prebran SNP WUR gena GBP1 za 2567 živali. Pri obeh maternalnih pasmah ni bilo živali genotipa GG (tabela 1), pri slovenskem landrasu je bilo tri četrtine živali genotipa AA ter ena četrtina živali genotipa AG. Frekvenca alela G je znašala 12,8 %. Pri pasmi slovenski veliki beli prašič imamo rezultat le za 24 živali, pri čemer jih je bilo 87,5 % genotipa AA in 12,5 % genotipa AG ter posledično frekvenca alela G 6,3 %. Alel A, ki je neugoden za lastnosti prireje pri okužbi z virusom PRRS, ima visoko frekvenco pri slovenskem landrasu (87,2 %) in pri slovenskem velikem belem prašiču (93,8 %), najverjetneje zaradi selekcije na boljšo rast pri sodobnih pasmah. Pri hibridu 12, pri katerem imamo rezultat za SNP WUR gena GBP1 pri 35 živalih (tabela 2), se opažene frekvence genotipov AA, AG in GG niso razlikovale od pričakovanih frekvenc na osnovi frekvenc alelov pri pasmah slovenski landras in slovenski veliki beli prašič. Svinje hibrida 12 imajo frekvenco alela G 1,4 %. Dunkelberger in sod. (2017) navajajo, da je najverjetnejši vzrok za manjšo pogostost alela G, ki je ugoden za lastnosti prireje v primeru okužbe, dejstvo, da ni selektivne prednosti alela G v odsotnosti virusa PRRS. Tako živali s tem alelom niso bile odbrane, saj se selekcija večinoma izvaja v okolju brez PRRS. Pena in sod. (2019) so pri svinjah pokazali, da je v primeru okužbe z virusom PRRS verjetnost za abortus 2,7-krat večja pri genotipu AA kot pri genotipu AG. Alel G, ki je odgovoren za odpornost na virus PRRS, ima tako zaščitno vlogo tudi pri plodnosti.

Med terminalnimi pasmami imajo frekvenco alela G za SNP WUR gena GBP1 1,5 % živali pasme slovenski mesnati landras (135 vzorcev), 10,2 % živali pasme pietren (275 vzorcev) ter 2,6 % živali pasme durok, kjer pa imamo le 21 vzorcev (tabela 1). Pri pasmi pietren je heterozigotov AG 18,9 % in homozigotov GG 0,7 %. Vse tri omenjene pasme imajo visoko frekvenco alela A, 89,9 % pri pasmi pietren, 97,6 % pri pasmi durok ter 98,5 % pri pasmi slovenski mesnati landras. Durok ima veliko sposobnost rasti, solidno mesnatost ter veliko vsebnost intramuskularne maščobe, ki je v prašičjem mesu zaželeno. Tudi ostali dve terminalni pasmi imata solidno rastnost, zato visoka frekvenca alela A zaradi selekcije na boljšo rast ni presenetljiva. Pri živalih hibrida 54 (58 vzorcev) je frekvenca alela G 83,7 % (tabela 2), kar glede na starševski pasmi pričakovano. Za hibrid 43 imamo le pri 7 vzorcih prebran genotip za SNP WUR gena GBP1, pri jih pa je frekvenca alela G 0,0 %.

Za krškopoljske prašiče je bilo med genotipiziranimi vzorci prebranih 1268 vzorcev, pri čemer je frekvenca genotipa AA 74,9 % in frekvenca genotipa AG 22,6 % (tabela 1). Frekvenca genotipa GG pri krškopoljskem prašiču je med čistopasemskimi živalmi največja, a znaša le 2,5 %. Frekvenca alela G je tako 13,8 % in je višja pri avtohtoni pasmi v primerjavi s sodobnimi pasmami. To se sklada s študijo Geraci in sod. (2019), kjer so ugotovili, da je frekvenca alela G višja pri štirih italijanskih avtohtonih pasmah prašičev, kar upravičuje mnenje, da so avtohtone pasme odpornejše na boleznin kot sodobne pasme.

Med 576 prebranimi genotipi na čipu 50KPlus za SNP rs340943904 gena GBP5 ima pasma slovenski landras frekvenco genotipa GG 76,7 %, frekvenco genotipa GT 22,5 % in le 0,9 % genotipa TT (tabela 1). Posledično frekvenca alela T znaša 12,1 %. Že prej smo omenili, da nezaželeni alel G SNP-a rs340943904 kodira skrajšani nefunkcionalni GBP5 protein, kar vodi do neuspešne obrambe homozigota GG ob okužbi z virusom PRRS. Alel T je zaželeni alel in je v povezavi z odpornostjo na virus PRRS. Pri pasmi slovenski veliki beli prašič (zelo majhen vzorec, le 4) so vse živali genotipa GG in je posledično frekvenca alela G 100 %. Geraci in sod. (2019) so pri italijanskem velikem belem prašiču dobili frekvenco alela T 8,7 %, kar je primerljivo s slovenskim landrasom, ki je prav tako maternalna pasma. Pena in sod. (2019) so pokazali, da je v času okužb z virusom PRRS verjetnost abortusa 2,8-krat večja pri svinjah genotipa GG kot pri svinjah genotipa TG, v primerjavi s svinjami genotipa TT pa kar 4,5-krat večja. Alel T SNP-a rs340943904 v genu GBP5 odgovoren za odpornost na virus PRRS, ima tako zaščitno vlogo tudi pri plodnosti. Pri hibridu 12 ima 17 živali uspešno prebran SNP rs340943904, frekvenca alela T znaša 3,0 % (tabela 2). Frekvence opaženih genotipov se skladajo s pričakovanimi.

Med terminalnimi pasmami ima pietren najvišjo frekvenco zaželenega alela T, in sicer 10,1 %, sledi mu slovenski mesnati landras z 8,6 % (tabela 1). Omenjeni frekvenci alela T sta posledica frekvenc genotipa GG 80,8 % in genotipa GT 18,5 % pri pasmi pietren ter frekvenc genotipa GG 90,0 % in genotipa GT 2,9 % pri pasmi slovenski mesnati landras. Med uspešno prebranimi genotipi (13 vzorcev) pri pasmi durok so bili vse živali genotipa GG, posledično je frekvenca alela T 0 %. Glede na literaturo je pričakovano, da je alel G pogostejši od alela T. Alel G SNP-a rs340943904 gena GBP5 je kriv za nastanek nefunkcionalnega proteina GBP5. Prizadete so samo živali z genotipom GG, ker imajo nefunkcionalen protein in so posledično občutljive na virus PRRS. Enako velja za alel A SNP-a WUR gena GBP1. Tako za alel T SNP-a rs340943904 gena GBP5 kot za alel G SNP-a WUR velja, da sta v povezavi z odpornostjo na virus PRRS. V raziskavi Jeon in sod. (2021) so bili vsi prašiči z genotipom GG na genu GBP1 tudi genotipa TT gena GBP5, kar nakazuje na vezavo teh dveh SNP-ov. Pri hibridu 54 (27 vzorcev) je frekvenca alela T 11,1 % (tabela 2), pričakovane frekvence genotipov na osnovi parjenj med starševskima pasmama pa se skladajo z opaženimi.

Pri pasmi krškopoljski prašič imamo med genotipiziranimi vzorci na čipu 50Kplus uspešno prebranih 239 vzorcev in od tega jih je 72,4 % genotipa GG, 26,4 % genotipa GT ter le 1,8 % genotipa TT (tabela 1). Frekvenca zaželenega alela T je posledično 14,5 % in je višja pri avtohtoni pasmi kot pri sodobnih pasmah. Rezultat se sklada s študijo Geraci in sod. (2019), ki so ugotovili pri vseh štirih italijanskih avtohtonih pasmah prašičev, da je frekvenca alela T SNP-a rs340943904 gena GBP5 višja kot pri

sodobnih pasmah, kar – podobno kot frekvenca alela A SNP-a WUR gena GBP1 – podpira prepričanje, da je odpornost avtohtonih pasem večja v primerjavi s sodobnimi pasmami. Muñoz in sod. (2018) so pri 20 evropskih avtohtonih pasmah pokazali zelo veliko raznolikost pri frekvenci alela T (0 - 42 %). Pri zajetih živalih pasme krškopoljski prašič je bila frekvenca alela T 5 %.

4.3 Gen za odpornost na seve F4 in F18 bakterije *E. coli*

Pri čistopasemskih prašičih imamo za MUC4 (rs338992994) uspešno prebranih 563 genotipov. Pri slovenskem landrasu (119 vzorcev) je frekvenca genotipa GG 27,7 %, frekvenca heterozigotov 48,7 %, ostalo pa je genotip CC (23,5 %, tabela 1). Alel G je povezan s prisotnostjo receptorja F4 in posledično z občutljivostjo na okužbo, ki se kaže z drisko pri sesnih pujskih. Njegova frekvenca je 52,1 %. Pri pasmi slovenski veliki beli prašič je frekvenca alela G 50,0 % pri le 4 vzorcih. Geraci in sod. (2019) ter Fontanesi in sod. (2012) so navedli, da se pri italijanskem velikem belem prašiču frekvenca alela G giblje med 42,5 % in 49,3 %, podobno frekvenco (46,0 %) ima tudi italijanski landras. Omenjeni avtorji so dokazali, da je alel G povezan s prisotnostjo receptorja F4 in občutljivostjo na *E. coli* F4, hkrati pa je povezan tudi z boljšo rastjo. Alel G, ki povzroča občutljivost, se v populaciji ohranja zaradi selekcije na boljšo rast. Zaradi delovanja naravne selekcije proti občutljivem genotipu se v obdobju pred odstavitvijo zmanjša delež prašičev z občutljivim genotipom, saj le-ti poginejo pogosteje kot tisti z odpornim genotipom. Preživeli prašiči z občutljivim genotipom imajo boljše priraste in jih tako verjetneje odberemo. Zato uravnoveženi naravna in umetna selekcija ohranjata enako frekvenco alelov G in C v populacijah prašičev. Alel C je povezan z odsotnostjo receptorja F4 in odpornostjo. Genotipa GG in CG sta občutljiva na *E. coli* F4 in imata na črevesnih celicah receptor F4, medtem ko je genotip CC odporen na *E. coli* F4 zaradi odsotnosti receptorja F4. Pri živalih hibrida 12 je frekvenca alela G 53,0 % (tabela 2) in je primerljiva s frekvenco alela G pri starševskih pasmah.

Pri terminalnih pasmah ima pasma pietren (125 vzorcev) frekvenco alela G 39,7 % in pasma slovenski mesnati landras 8,8 % (63 vzorcev, tabela 1). Pri pasmi durok so bile vse živali genotipa CC in posledično je bila frekvenca alela G 0 %, vendar ti rezultati niso dovolj zanesljivi zaradi majhnega števila vzorcev (13), zato ne moremo sklepati, da alela G v naši populaciji duroka ni. Kot vidimo, imajo terminalne pasme manjšo frekvenco alela G kot maternalni pasmi, tako da lahko sklepamo, da so terminalne pasme bolj odporne na *E. coli* F4. Fontanesi in sod. (2012) pri italijanskem duroku navajajo frekvenco alela G 8,3 %. Pri hibridu 54 se opažena frekvenca genotipov sklada s pričakovanimi frekvencami pri starševskih pasmah, medtem ko za hibrid 43 nimamo uspešno prebranih genotipov v vzorcih.

Za krškopoljske prašiče imamo znanih 249 genotipov za SNP (rs338992994) gena MUC4. V populaciji je frekvenca genotipa CC 88,7 %, genotipa CG 10,9 % ter genotipa GG 0,4 % (tabela 1). Frekvenca alela G je tako 5,9 %, preostali del predstavlja zaželeni alel C (94,1 %). Frekvenca alela C je pri avtohtoni pasmi višja kot pri sodobnih pasmah. Enako velja tudi pri italijanskih avtohtonih pasmah, kar so pokazali Geraci in sod. (2019) v svoji študiji, kar tudi dodatno podpira razlago, da je odpornost avtohtonih pasem

Tabela 1: Število (N) genotipiziranih vzorcev in frekvenca (%) genotipov in alelov pri pasmah

	Občutljivost na stres (SMH)	Odpornost na virus PRRS				Odpornost na bakterijo <i>E. coli</i>				Kakovost mesa	
		GBP1	GBP5	MUC4	FUT1	MTTP					
Slovenski landras (11)											
Z	340	340	120	119	121	120					
Genotip	NN	100,0	AA 74,4	GG 76,7	CC 23,5	AA 10,7	CC 28,3				
	NP	0,0	AG 25,6	GT 22,5	CG 48,7	AG 39,7	CT 55,8				
	PP	0,0	GG 0,0	TT 0,8	GG 27,7	GG 49,6	TT 15,8				
Alel	N	100,0	A 87,2	G 87,9	C 47,9	A 30,6	C 56,2				
	P	0,0	G 12,8	T 12,1	G 52,1	G 69,4	T 43,7				
Slovenski veliki beli prašič (22)											
Z	24	24	4	4	4	4					
Genotip	NN	100,0	AA 87,5	GG 100,0	CC 50,0	AA 25,0	CC 75,0				
	NP	0,0	AG 12,5	GT 0,0	CG 0,0	AG 50,0	CT 25,0				
	PP	0,0	GG 0,0	TT 0,0	GG 50,0	GG 25,0	TT 0,0				
Alel	N	100,0	A 93,8	G 100,0	C 50,0	A 50,0	C 87,5				
	P	0,0	G 6,3	T 0,0	G 50,0	G 50,0	T 12,5				
Durok (33)											
Z	21	21	13	13	13	13					
Genotip	NN	100,0	AA 95,2	GG 100,0	CC 100,0	AA 0,0	CC 0,0				
	NP	0,0	AG 4,8	GT 0,0	CG 0,0	AG 0,0	CT 0,0				
	PP	0,0	GG 0,0	TT 0,0	GG 0,0	GG 100,0	TT 100,0				
Alel	N	100,0	A 97,6	G 100,0	C 100,0	A 0,0	C 0,0				
	P	0,0	G 2,4	T 0,0	G 0,0	G 100,0	T 100,0				
Pietren (44)											
Z	272	274	130	125	131	131					
Genotip	NN	73,9	AA 80,3	GG 80,8	CC 31,2	AA 2,3	CC 26,0				
	NP	24,3	AG 19,0	GT 18,5	CG 58,4	AG 21,4	CT 45,8				
	PP	1,8	GG 0,7	TT 0,8	GG 10,4	GG 76,3	TT 28,2				
Alel	N	86,0	A 89,8	G 90,0	C 60,4	A 13,0	C 48,9				
	P	14,0	G 10,2	T 10,0	G 39,6	G 87,0	T 51,1				
Slovenski mesnati landras (55)											
Z	129	134	70	63	72	74					
Genotip	NN	86,8	AA 97,0	GG 90,0	CC 82,5	AA 11,1	CC 79,7				
	NP	12,4	AG 3,0	GT 2,9	CG 17,5	AG 16,7	CT 18,9				
	PP	0,8	GG 0,0	TT 7,1	GG 0,0	GG 72,2	TT 1,4				
Alel	N	93,0	A 98,5	G 91,4	C 91,3	A 19,4	C 89,2				
	P	7,0	G 1,5	T 8,6	G 8,7	G 80,6	T 10,8				
Krškopoljski prašič (88)											
Z	1671	1674	239	239	236	239					
Genotip	NN	68,7	AA 75,7	GG 72,4	CC 88,7	AA 28,0	CC 31,0				
	NP	29,9	AG 21,9	GT 26,4	CG 10,9	AG 53,8	CT 52,3				
	PP	1,3	GG 2,4	TT 1,3	GG 0,4	GG 18,2	TT 16,7				
Alel	N	83,7	A 86,7	G 85,6	C 94,1	A 54,9	C 57,1				
	P	16,3	G 13,3	T 14,4	G 5,9	G 45,1	T 42,9				
Skupaj											
Z	2457	2467	576	563	577	581					
Genotip	NN	75,1	AA 77,5	GG 78,1	CC 61,5	AA 15,8	CC 35,1				
	NP	23,7	AG 20,8	GT 20,1	CG 29,8	AG 37,6	CT 46,0				
	PP	1,2	GG 1,7	TT 1,7	GG 8,7	GG 46,6	TT 18,9				
Alel	N	87,0	A 87,9	G 88,2	C 76,4	A 34,6	C 58,1				
	P	13,0	G 12,1	T 11,8	G 23,6	G 65,4	T 41,9				

Tabela 2: Število (N) genotipiziranih vzorcev in frekvence (%) genotipov in alelov pri hibridih

		Občutljivost na stres (SMH)	Odpornost na virus PRRS			Odpornost na bakterijo <i>E. coli</i>			Kakovost mesa			
			GBP1	GBP5	MUC4	FUT1	MTTP					
Hibrid (12)												
Genotip	Z	34	35	17	17	17	17	17	17	17	17	17
	NN	100,0	AA	97,1	GG	94,1	CC	23,5	AA	5,9	CC	58,8
	NP	0,0	AG	2,9	GT	5,9	CG	47,1	AG	47,1	CT	29,4
Alel	N	100,0	A	98,6	G	97,1	C	47,1	A	29,4	C	73,5
	P	0,0	G	1,4	T	2,9	G	52,9	G	70,6	T	26,5
Hibrid (43)												
Genotip	Z	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
	NN	100,0	AA	100,0	GG	0,0	CC	0,0	AA	0,0	CC	0,0
	NP	0,0	AG	0,0	GT	0,0	CG	0,0	AG	0,0	CT	0,0
Alel	N	100,0	A	100,0	G	0,0	C	0,0	A	0,0	C	0,0
	P	0,0	G	0,0	T	0,0	G	0,0	G	0,0	T	0,0
Hibrid (54)												
Genotip	Z	58	58	27	27	27	27	27	27	27	27	27
	NN	70,7	AA	69,0	GG	77,8	CC	55,6	AA	0,0	CC	18,5
	NP	29,3	AG	29,3	GT	22,2	CG	40,7	AG	22,2	CT	48,1
Alel	N	85,3	A	83,6	G	88,9	C	75,9	A	11,1	C	42,6
	P	14,7	G	16,4	T	11,1	G	24,1	G	88,9	T	57,4
Skupaj												
Genotip	Z	99	100	44	44	44	44	44	44	44	44	44
	NN	82,8	AA	81,0	GG	84,1	CC	43,2	AA	2,3	CC	34,1
	NP	17,2	AG	18,0	GT	15,9	CG	43,2	AG	31,8	CT	40,9
Alel	N	91,4	A	90,0	G	92,0	C	64,8	A	18,2	C	54,5
	P	8,6	G	10,0	T	8,0	G	35,2	G	81,8	T	45,5

Tabela 3: Število (N) genotipiziranih vzorcev in frekvence (%) genotipov in alelov sumarno

		Občutljivost na stres (SMH)	Odpornost na virus PRRS				Odpornost na bakterijo <i>E. coli</i>				Kakovost mesa	
			GBP1		GBP5		MUC4		FUT1		MTTP	
Maternalni genotipi												
Genotip	Z	398	399		141		140		142		141	
	NN	100,0	AA	77,2	GG	79,4	CC	24,3	AA	10,6	CC	33,3
	NP	0,0	AG	22,8	GT	19,9	CG	47,1	AG	40,8	CT	51,8
Alel	PP	0,0	GG	0,0	TT	0,7	GG	28,6	GG	48,6	TT	14,9
	N	100,0	A	88,6	G	89,4	C	47,9	A	31,0	C	59,2
	P	0,0	G	11,4	T	10,6	G	52,1	G	69,0	T	40,8
	Terminalni genotipi											
Genotip	Z	487	494		240		228		243		245	
	NN	78,4	AA	84,4	GG	84,2	CC	52,2	AA	4,5	CC	40,0
	NP	20,3	AG	15,0	GT	13,3	CG	41,7	AG	18,9	CT	35,5
Alel	PP	1,2	GG	0,6	TT	2,5	GG	6,1	GG	76,5	TT	24,5
	N	88,6	A	91,9	G	90,8	C	73,0	A	14,0	C	57,8
	P	11,4	G	8,1	T	9,2	G	27,0	G	86,0	T	42,2
	Krškopoljski prašič (88)											
Genotip	Z	1671	1674		239		239		236		239	
	NN	68,7	AA	75,7	GG	72,4	CC	88,7	AA	28,0	CC	31,0
	NP	29,9	AG	21,9	GT	26,4	CG	10,9	AG	53,8	CT	52,3
Alel	PP	1,3	GG	2,4	TT	1,3	GG	0,4	GG	18,2	TT	16,7
	N	83,7	A	86,7	G	85,6	C	94,1	A	54,9	C	57,1
	P	16,3	G	13,3	T	14,4	G	5,9	G	45,1	T	42,9

večja v primerjavi s sodobnimi pasmami. Muñoz in sod. (2018) so pri dvajset evropskih avtohtonih pasmah ugotovili visoko frekvenco alela C, med 60 in 100 %, pri čemer je bila za krškopoljskega prašiča navedena frekvenca alela C 84 %.

Pri 621 vzorcih, ki so bili genotipizirani na čipu 50KPlus, smo lahko določili genotip za SNP (rs335979375) gena FUT1 (tabeli 1 in 2). Pri živalih pasme slovenski landras je bilo 10,7 % genotipa AA (tabeli 1), ki je odporen proti *E. coli* F18, ter 39,7 % genotipa AG in 49,6 % genotipa GG, ki sta občutljiva na *E. coli* F18. Frekvenca alela A, ki je povezan z odsotnostjo receptorja F18 in tako z odpornostjo na okužbo, je pri tej pasmi bila 31,3 %. Pri pasmi slovenski veliki beli prašič je bila frekvenca alela A 50,0 %, vendar smo imeli le štiri vzorce. Geraci in sod. (2019) so za pasmo italijanski veliki beli prašič navedli frekvenco alela A 11,5 %, so pa v svoji študiji ugotovili, da omenjeni SNP v tej populaciji ni povezan z lastnostmi prireje. Podobno so ugotovili tudi Luc in sod. (2020) za populacijo jorkširja v Vietnamu, medtem ko v nekaterih raziskavah ugotavljajo povezavo med genotipi za gen FUT1 in klavnimi lastnostmi ter lastnostmi kakovosti mesa. V švicarskih populacijah prašičev pa so Meijerink in sod. (1997) ugotovili, da so med genotipi gena FUT1 razlike v rasti. Frekvenca alela A je 29,4 % pri živalih hibrida 12 (tabela 2), kar je skladno s frekvenco starševskih pasem.

Pri terminalnih pasmah ima pasma pietren (131 vzorcev) frekvenco alela A 13,1 %, pasma slovenski mesnati landras (72 vzorcev) 19,4 % (tabela 1), medtem ko v populaciji duroka alela A nismo zasledili, saj imamo pri tej pasmi znan genotip le za 4 živali. Pri hibridu 54 se frekvenca opaženih genotipov ne

sklada s pričakovanimi frekvencami na osnovi frekvenc genotipov starševskih pasem pietren in slovenski mesnati landras, vendar vzorec ni velik (27 živali, tabela 2).

V populaciji krškopoljskih prašičev imamo prebran genotip FUT1 pri 236 vzorcih. Frekvenca genotipa AA je 28,0 %, frekvenca genotipa AG 53,8 %, preostalih 18,2 % živali je genotipa GG (tabela 1). Glede na opažene frekvence genotipov znaša frekvenca alela A 54,9 %. Frekvenca zaželenega alela A je pri krškopoljskem prašiču višja kot pri sodobnih pasmah. Pri italijanskih avtohtonih pasmah je frekvenca alela A pa zelo različna Geraci in sod. (2019), med 6,0 % pri pasmi apulo calabrese in 55,4 % pri pasmi casertana. Tudi Muñoz in sod. (2018) so pokazali veliko variabilnost med evropskimi avtohtonimi pasmami pri frekvenci alela A, ki imela razpon med 4 in 74 %. Pri vzorcu krškopoljskih prašičev, ki so bili vključeni v omenjeno študijo, je bila frekvenca alela A 71 %, kar je bilo več kot v naši raziskavi.

5 Zaključki

Zmanjšanje izpustov TGP je pomemben izziv pri reji prašičev. Že s samo selekcijo na lastnosti priraje se učinkovitost prašičev pri rasti, izkoriščanju krme, plodnosti, dolgoživosti ipd. izboljšuje, s čimer tudi že prispevamo k zmanjšanju izpustov TGP v prašičereji.

Gen RYR1 je poznan že nekaj časa, kot tudi njegovi učinki pri prašičih. Pri genu RYR1 smo z neizbranstvo živali z genotipom PP kot starše naslednje generacije ter odsvetovanimi parjenji med dvema živalma z genotipom NP uspeli zmanjšati pogostost nezaželenega alela P, kar dokazuje, da je bila selekcija proti SMH uspešna. Zaradi SMH imamo v populaciji lahko povečane izgube pri živalih.

Z napredkom molekularnogenetskih metod, ki se vse bolj uveljavljajo pri reji rejnih živali, je tudi pri prašičih znanih vse več genetskih označevalcev za boleznin kot tudi za lastnosti priraje. Za označevalce v genih GBP1 in GBP5 se je izkazalo, da so povezani z odpornostjo proti virusu PRRS, medtem ko so označevalci v genih MUC4 in FUT1 povezani z odpornostjo proti sevom F4 in F18 bakterije *E. coli*. Odpornost na boleznin ne vpliva le na zdravje živali, temveč tudi na dobro počutje, na izgube živali in tako neposredno ali posredno vpliva na prirajo in je tako posledično povezana tudi z zmanjšanjem izpustov TGP.

Pri genu GBP1 ima alel A SNP-a WUR, ki je neugoden ob okužbi z virusom PRRS, visoko frekvenco tako pri sodobnih pasmah kot pri pasmi krškopoljski prašič. Najverjetnejši razlog za manjšo pogostost ugodnega alela G je, da nima selektivne prednosti v odsotnosti virusa PRRS. Ker se večina selekcije izvaja v okolju brez boleznin, alela A do sedaj nismo izločali, saj je zaželen, ker je povezan z boljšo rastjo. Frekvenca alela G je podobna pri pasmi krškopoljski prašič in maternalnih genotipih, medtem ko je pri terminalnih genotipih nižja, kar nakazuje boljšo odpornost avtohtonih pasem in maternalnih pasem v primerjavi z ostalimi sodobnimi pasmami.

Pri genu GBP5 nezaželen alel G kodira nefunkcionalni protein GBP5, ki pri homozigotu GG ob okužbi z virusom PRRS ne more zavirati vstopa virusa v celice in njegove replikacije. Zaželeni alel T, ki je povezan z odpornostjo na virus PRRS, je povezan tudi s plodnostjo.

Označevalec MUC4 g.8227C>G v nekaterih selekcijskih programih že uporabljajo za zmanjšanje pogostosti občutljivega alela G lokusa F4bcR pri komercialnih prašičih pitancih. V naših populacijah je pogostost alela G, ki kodira protein receptorja F4 in povzroča občutljivost na *E. coli* F4, majhna pri avtohtoni pasmi (5,9 %), pri terminalnih (27,0 %) in maternalnih genotipih (52,2 %) pa je večja.

Za označevalec FUT1 c.307G>A v literaturi ni navedeno, da je negativno povezan z lastnostmi prireje, povezan pa je z občutljivostjo na okužbe z *E. coli* F18 in posledično driskami. Tudi pri tem označevalcu ima avtohtona pasma največjo pogostost zaželenega alela A (54,9 %), manjša je pri maternalnih genotipih (32,0 %), najmanjša pa pri terminalnih genotipih (14,0 %).

Vključevanje informacije o genotipih živali prej navedenih označevalcev pri selekciji plemenskega podmladka bi bilo koristno pri povečevanju odpornosti na okužbo PRRS ter zmanjševanju pogostosti drisk pri sesnih pujskih in tekačih. Pri zgoraj omenjenih označevalcih smo okvirno ocenili frekvence genotipov in alelov. Potrebno pa je še raziskati, kako so povezani z lastnostmi prireje in pojavnostjo okužb v naših populacijah. Pri nezaželenih alelih, ki so v naših populacijah pogosti, se moramo zmanjševanja njihove frekvence lotiti načrtno in počasi, saj bi lahko preveč zmanjšali genetski napredek pri gospodarsko pomembnih lastnostih. Pri tem je potrebno sodelovanje tako živinorejske kot veterinarske stroke.

Trenutne informacije o različnih genih bomo v prihodnje obogatili s še več označevalci, ki so povezani z odpornostjo na bolezn, s plodnostjo, kakovostjo mesa ter ostalimi lastnostmi prireje, saj tudi na ta način lahko prispevamo k zmanjševanju izpustov TGP v prašičereji.

Literatura

- Abella G., Pena R.N., Nogareda C., Tarancon V., Novell E., Estany J., Fraile L. 2015. Expression profiling of the GBP1 gene as a candidate gene for porcine reproductive and respiratory syndrome resistance. *Res. Vet. Sci.*, 104: 117–122.
- Bao W., Wu S.L., Musa H., Zhu G., Chen G.H. 2008. Genetic variation at the alpha-1-fucosyltransferase (FUT1) gene in Asian wild boar and Chinese and Western commercial pig breeds. *J. Anim. Breed. Genet.*, 125: 427–430.
- Bao W.B., Ye L., Zhu J., Pan Z.Y., Zhu G.Q., Huang X.G., Wu S.L. 2012. Evaluation of M307 of FUT1 gene as a genetic marker for disease resistance breeding of Sutai pigs. *Mol. Bio. Rep.*, 39: 4223–4228.
- Boddicker N., Waide E.H., Rowland R.R.R., Lunney J.K., Garrick D.J., Reecy J.M., Dekkers J.C.M. 2012. Evidence for a major QTL associated with host response to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus challenge. *J. Anim. Sci.*, 90: 1733–1746.

- Børsting C., Morling N. 2013. Single-Nucleotide Polymorphisms. V: Encyclopedia of Forensic Sciences. 2nd ed. Siegel P.K., Sukko J.A., Houck M.M. (ur.). London, Academic Press: 233–238.
- Cardador M., Reyes-Palomo C., Gaona C., Arce L., Rodríguez-Estévez V. 2020. Review of the methodologies for measurement of greenhouse gas emissions in livestock farming: Pig farms as a case of study. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 52: 1–19.
- Chang C.C., Chow C.C., Tellier L.C., Vattikuti S., Purcell S.M., Lee J.J. 2015. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience*, 4: 7.
- Čandek-Potokar M., Žlender B., Kramar Z., Šegula B., Fazarinic G., Uršič M. 2003. Evaluation of Slovene local pig breed Krškopolje for carcass and meat quality. *Czech J. Anim. Sci.*, 3: 120–128.
- Davies W., Harbitz I., Fries R., Stranzinger G., Hauge J.G. 1988. Porcine malignant hyperthermia carrier detection and chromosomal assignment using a linked probe. *Anim. Genet.*, 19: 203–212.
- Davoudi P., Ngoc Duy D., Colombo S.M., Rathgeber B., Miar Y. 2022. Application of genetic, genomic and biological pathways in improvement of swine feed efficiency. *Front. Genet.*, 4: 903733.
- Duan H., Dong H., Wu S., Ren J., Zhang M., Chen C., Du Y., Zhang G., Zhang A. 2022. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus non-structural protein 4 cleaves guanylate-binding protein 1 via its cysteine proteinase activity to antagonize GBP1 antiviral effect. *Vet. Res.*, 53: 55.
- Dunkelberger J.R., Mathur P.K., Lopes M.S., Knol E.F., Dekkers J.C.M. 2017. A major gene for host response to porcine reproductive and respiratory syndrome is not unfavorably associated with overall performance under nonchallenging conditions in commercial pig lines. *J. Anim. Sci.*, 95: 2838–2847.
- Flisar T., Gorjanc G., Malovrh Š., Ule I., Kovač M. 2004. Genski test na sindrom maligne hipertermije. Spremljanje proizvodnosti prašičev, III. del. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Katedra za etologijo, biometrijo in selekcijo ter prašičerejo.
- Fontanesi L., Bertolini F., Dall'Olio S., Buttazzoni L., Gallo M., Russo V. 2012. Analysis of association between the MUC4 g.8227C>G polymorphism and production traits in Italian heavy pigs using a selective genotyping approach. *Anim. Biotechnol.*, 23: 147–155.
- Fujii J., Otsu K., Zorzato F., Leon S.D., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien P.J., McLennan D.H. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253: 448–451.
- Geraci C., Varzandi A.R., Schiavo G., Bovo S., Ribani A., Utzeri V.J., Galimberti G., Buttazzoni L., O. O., Gallo M., Dall'Olio S., Fontanesi L. 2019. Genetic markers associated with resistance to infectious diseases have no effects on production traits and haematological parameters in Italian large white pigs. *Livest. Sci.*, 223: 32–38.

- Gol S., Estany L.J., Pena R.N. 2015. Expression profiling of the GBP1 gene as a candidate gene for porcine reproductive and respiratory syndrome resistance. *Anim. Genet.*, 46: 599–606.
- Jeon R., Cheng J., Putz A., Dong Q., Harding J.C.S., Dyck M.K., Plastow G.S., Fortin F., Joan K., Rowland R., PigGen Canada, Dekkers J. 2021. Effect of a genetic marker for the GBP5 gene on resilience to a polymicrobial natural disease challenge in pigs. *Livest. Sci.*, 244: 104399.
- Kastelic A. 2008. Razvoj pasme in plodnost krškopoljskega prašiča. Magistrska naloga. Domžale, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 206 str.
- Khatun A., Nazki S., Jeong C.G., Gu S., Mattoo S.S., Lee S., Yang M.S., Lim B., Kim K.S., Kim B., Lee K.T., Park C.K., Lee S.M., Kim W.I. 2020. Effect of polymorphisms in porcine guanylate-binding proteins on host resistance to PRRSV infection in experimentally challenged pigs. *Vet. Res.*, 51: 14.
- Koltes J., Fritz-Waters E., Easley C., Choi I., Bao H., Kommadath A., Serão N., Boddicker N., Abrams S., Schroyen M., Loyd H., Tuggle C., Plastow G., Guan L., Stothard P., Joan K., Liu P., Carpenter S., Rowland R., Reecy J. 2015. Identification of a putative quantitative trait nucleotide in guanylate binding protein 5 for host response to PRRS virus infection. *BMC genetics*, 16: 412.
- Kpogo L., Jose J., Panisson J., Agyekum A., Predicala B., Alvarado A., Agnew J., Sprenger C., Beaulieu A. 2021. Greenhouse gases and performance of growing pigs fed wheat-based diets containing wheat millrun and a multi-carbohydrase enzyme. *J. Anim. Sci.*, 99: 1–9.
- Krhlanko S., Kovač M. 2021. Prisotnost mutacije na genu RYR1 v populaciji krškopoljskega prašiča. V: 29. mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali Zadravčevi-Erjavčevi dnevi 2021, Murska Sobota, 4. in 5. november 2021. Čeh T., Kapun S. (ur.), Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Murska Sobota, str. 79–84.
- Krhlanko S., Ložar K., Kovač M., Malovrh Š. 2021. Mutacija na genu RYR1 v populaciji krškopoljskih prašičev. V: Krškopoljski prašič - ohranjanje in odbira plemenskih živali. Malovrh Š., Kovač M. (ur.), Domžale, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Enota za prašičerejo: 29–36.
- Lahucky R., Christian L.L., Kovac L., Stalder K.J., Bauerova M. 1997. Meat quality assessed ante- and post mortem by different ryanodine receptor gene status of pigs. *Meat Sci.*, 47: 277–285.
- Lefaucheur L. 2001. Myofiber typing and pig meat production. *Slo. Vet. Res.*, 38: 5–33.
- Luc D., Thinh N., Bo H., Vinh N., Manh T., Hung N., Ton V., Farnir F. 2020. Mutation c.307G>A in FUT1 gene has no effect on production performance of Yorkshire pigs in the tropics: the case of Vietnam. *Can. J. Anim. Sci.*, 100: 426–431.
- Luisse D., Motta V., Bertocchi M., Salvarani C., Clavenzani P., Fanelli F., Pagotto U., Bosi P., Trevisi P. 2019. Effect of mucine 4 and fucosyltransferase 1 genetic variants on gut homeostasis of growing healthy pigs. *J. Anim. Physiol. An. N.*, 103: 801–812.

- MacLennan D.H., Duff C., Zorzato F., Fujii J., Phillips M., Korneluk R.G., Frodis W., Britt B.A., Wortont R.G. 1990. Ryanodine receptor gene is a candidate for a predisposition to malignant hyperthermia. *Nature*, 343: 559–561.
- Martin F.J., Amode M.R., Aneja A., Austine-Orimoloye O., Azov A.G., Barnes I., Becker A., Bennett R., Berry A., Bhai J., Bhurji S.K., Bignell A., Boddu S., Lins P.R.B., Brooks L., Ramaraju S.B., Charkhchi M., Cockburn A., Fiorretto L.D.R., Davidson C., Dodiya K., Donaldson S., Houdaigui B.E., Naboulsi T.E., Fatima R., Giron C.G., Genez T., Ghattaoraya G.S., Martinez J.G., Guijarro C., Hardy M., Hollis Z., Hourlier T., Hunt T., Kay M., Kaykala V., Le T., Lemos D., Marques-Coelho D., Marugán J.C., Merino G.A., Mirabueno L.P., Mushtaq A., Hossain S.N., Ogeh D.N., Sakthivel M.P., Parker A., Perry M., Piližota I., Prosovetskaia I., Pérez-Silva J.G., Salam A.I.A., Saraiva-Agostinho N., Schuilenburg H., Sheppard D., Sinha S., Sipos B., Stark W., Steed E., Sukumaran R., Sumathipala D., Suner M.M., Surapaneni L., Sutinen K., Szpak M., Tricomi F.F., Urbina-Gómez D., Veidenberg A., Walsh T.A., Walts B., Wass E., Willhoft N., Allen J., Alvarez-Jarreta J., Chakiachvili M., Flint B., Giorgetti S., Haggerty L., Ilsley G.R., Loveland J.E., Moore B., Mudge J.M., Tate J., Thybert D., Trevanion S.J., Winterbottom A., Frankish A., Hunt S.E., Ruffier M., Cunningham F., Dyer S., Finn R.D., Howe K.L., Harrison P.W., Yates A.D., Flicek P. 2023. Ensembl 2023. *Nucleic Acids Res.*, 51: D933–D941.
- Meijerink E., Fries R., Vögeli P., Masabanda J., Wigger G., Stricker C., Neuenschwander S., Bertschinger H.U., Stranzinger G.F. 1997. Two alpha(1,2) fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (s) and escherichia coli f18 receptor (ecf18r) loci. *Mamm. Genome*, 8: 736–41.
- Muñoz M., Bozzi R., García F., Núñez Y., Geraci C., Crovetti A., García-Casco J., Alves E., Škrlep M., Charneca R., Martins J., Quintanilla R., Tibau J., Kušec G., Djurkin-Kušec I., Mercat M., Riquet J., Estellé J., Zimmer C., Razmaite V., Araujo J., Radović Č., Savić R., Karolyi D., Gallo M., Čandek-Potokar M., Fontanesi L., Fernández A., Óvilo C. 2018. Diversity across major and candidate genes in european local pig breeds. *PLoS ONE journal*, 13: e0207475, doi:10.1371/journal.pone.0207475: 30 str.
- Nelsen C.J., Murtaugh M.P., Faaberg K.S. 1999. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus comparison: Divergent evolution on two continents. *J. Virol.*, 73: 270–280.
- Nurnberg K., Kuchenmeister U., Jakstadt M., Ender K., Kuhn G., Nurnberg G., Grune T. 2002. Compositional changes in muscle of malignant hyperthermia-susceptible pigs due to postmortem alterations in lipid metabolism, lipid peroxidation and protein oxidation. *J. Food Compos. Anal.*, 15: 283–292.
- Otto G., Roehe R., Looft H., Thoelking L., Knap P.W., Rothschild M.F., Plastow G.S., Kalm E. 2007. Associations of DNA markers with meat quality traits in pigs with emphasis on drip loss. *Meat Sci.*, 75: 185–195.

- Pena R.N., Fernández C., Blasco-Felip M., Fraile L.J., Estany J. 2019. Genetic markers associated with field PRRSV-induced abortion rates. *Viruses*, 11: 706.
- Rossow K.D. 1998. Porcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Pathol.*, 35: 1–20.
- SAS Inst. Inc. 2012. *The SAS System for Linux, Release 9.4*. Cary, NC.
- Shastri B.S. 2009. SNPs: Impact on gene function and phenotype. V: Single nucleotide polymorphisms: methods and protocols. 2nd ed. Komar A.A. (ur.), Totowa, Humana Press: 3–22.
- Šalehar A., Kastelic M., Dovč P. 1994. Frekvenca gena in vpliv genotipa RYR1 na rast in sestavo telesa prašičev treh pasem. *Sodobno kmetijstvo. Priloga: Slovenska prašičereja IV*, 27: 304–306.
- Šalehar A., Dovč P., Kovač M. 1998. Frekvence genov RYR1 po pasmah v Sloveniji v letih od 1994 do 1997. *Sodobno kmetijstvo. Priloga: Slovenska prašičereja VIII*, 31: 340–341.
- Toplak I., Rihtarič D., Hostnik P., Grom J., Štukelj M., Valenčak Z. 2012. Identification of a genetically diverse sequence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Slovenia and the impact on the sensitivity of four molecular tests. *J. Virol. Methods*, 179: 51–56.
- Valenčak Z. 2004. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in Slovenia: Evaluation of serology. *Slo. Vet. Res.*, 41: 99–101.
- Wall E., Simm G., Moran D. 2010. Developing breeding schemes to assist mitigation of greenhouse gas emissions. *Animal*, 4: 366–376.
- Wang S., Liu W., Yang L., Sargent C., Liu H., Wang C., Liu X., Zhao S., Affara N., Liang A., Zhang S. 2011. Effects of FUT1 gene mutation on resistance to infectious disease. *Mol. Bio. Rep.*, 39: 2805–2810.
- Zimmerman J., Benfield D., Christopher-Hennings J., Dee S., Stevenson G. 2011. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS).
<http://www.extension.org/pages/27264/porcine-reproductive-and-respiratory-syndrome-prrs>
(19.dec.2011)