

# 1 Simulacija odbire kandidatov za plemenske živali pri pasmi krškopoljski prašič glede na genotip RYR1

Špela Malovrh

## 1.1 Uvod

Preliminarno smo izvedli in analizirali posledice relativno enostavne simulacije različnih situacij odbire glede na genotip RYR1 (MacLennan in sod., 1990; Fujii in sod., 1991) oz. MHS v smislu populacijsko-genetske študije. Označevanje alelov v študiji je naslednje: alel N – divji alel, ki ne povzroča okvarjenih kalcij sproščujočih kanalov, in alel P – mutiran alel, ki povzroča okvaro in je nezaželen, saj povzroča slabšo kakovost mesa. Pri bialelnem lokusu imam posledično tri možne genotipe, in sicer NN (dominantni homozigot), PP (recesivni homozigot) ter NP (heterozigot, prenašalec alela P).

## 1.2 Material in metode

V simulaciji smo predpostavili naključno parjenje, neprekrivajoče generacije, različne koeficiente selekcije pri merjascih in svinjah genotipov NP in PP (tabela 1) ter odsotnost ostalih procesov, ki lahko spreminjajo frekvenco alelov. V simulaciji smo za vsako generacijo izvedli dva koraka, in sicer naključno parjenje (prvi korak) ter selekcijo (drugi korak). Selekcija oz. odbira v tej simulaciji temelji le na genotipu MHS. V 0-ti generaciji rezultati kažejo sedanje stanje v populaciji na osnovi pričakovanih frekvenc genotipov. Pri merjascih smo predvideli štiri scenarije in v vseh za razmnoževanje ne odberemo merjascev genotipa PP. Scenariji pa se razlikujejo v tem, kolikemu deležu heterozigotov NP "prepravimo" razmnoževanje: (1) ne omejujemo uporabe heterozigotov, (2) za 10 % zmanjšamo možnost odbire heterozigota, (3) za 50 % zmanjšamo možnost odbire heterozigota ter (4) heterozigotov sploh ne odberemo, t.j. za 100 % zmanjšamo možnost odbire heterozigota. Pri svinjah smo predpostavili le dve situaciji, in sicer (A) da pri odbiri svinj genotipa MHS ne upoštevamo oz. (B) da svinj genotipa PP (t.j. recesivnih homozigotov) ne namenimo za razmnoževanje. Skupno smo tako simulacijo izvedli za osem scenarijev. Za simulacijo potrebne makroje smo sprogramirali v statističnem paketu SAS/STAT (2012).

Tabela 1: Uporabljeni koeficienti selekcije za genotipe MHS v scenarijih simulacije in oznake scenarijev

Merjasci	Svinje	
	$s_{PP} = 0$	$s_{PP} = 1$
0	1A	1B
0.1	2A	2B
0.5	3A	3B
1	4A	4B

## 1.3 Rezultati in razprava

Živečo populacijo plemenskih živali trenutno sestavlja 72 merjascev in 470 svinj, pri čemer poznamo genotip MHS pri dveh tretjinah merjascev in eni tretjini svinj. Glede velikosti populacije plemenskih živali v simulaciji smo predpostavili, da jo sestavlja 75 merjascev in 500 svinj ter da se ne povečuje. Povečevanje bi vplivalo na potrebno

število merjascev in svinj za obnovo v vsaki generaciji, ne bi pa bistveno vplivalo na frekvenco genotipov in alelov. Simulacijo smo izvajali 20 generacij. Rezultate prikazujemo v slikah 1 do 3.

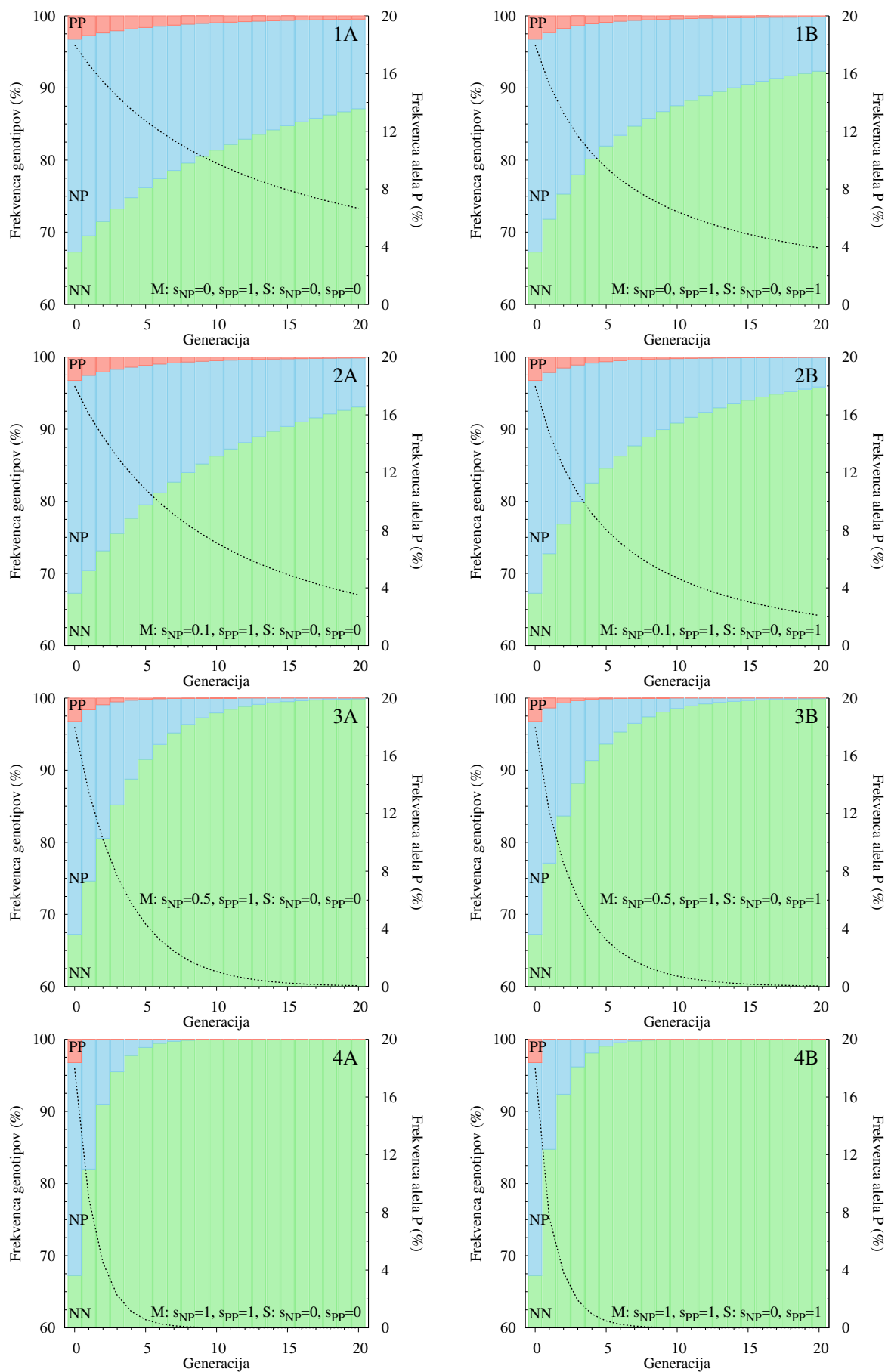
Glede na opravljene genske analize za MHS pri plemenskih živalih je v obstoječi populaciji pričakovano okrog 67 % živali genotipa NN, malo pod 30 % živali genotipa NP ter okrog 3 % živali genotipa PP. V primeru, da ne bi opravljali nobene selekcije na osnovi genotipa MHS pri obeh spolih, potem bi ob odsotnosti vseh sistematičnih in naključnih procesov frekvenca genotipov MHS in alelov ostajala nespremenjena iz generacije v generacijo ter bi bila enaka vrednostim, ki so prikazane v 0-ti generaciji pri vseh scenarijih.

Po vseh osmih prikazanih scenarijih lahko pričakujemo, da se bo povečevala frekvenca genotipa NN, frekvenci genotipov NP in PP pa zmanjševali, s čimer se bo zmanjševala tudi frekvenca nezaželenega alela P (slika 1). V primeru, da za razmnoževanje ne uporabljamo svinj, ki so genotipa PP (desni grafikoni 1B-4B, slika 1) na prvi pogled zgleda, da bi bili le nekoliko uspešnejši kot v scenarijih 1A-4A, da pri kandidatkah za plemenske svinje genotipa MHS pri odbiri ne upoštevamo oz. ga sploh ne ugotavljamo. Kljub temu pa bi se frekvenca alela P z začetnih 18 % prepolovila dvakrat hitreje, če svinj z genotipom PP ne uporabljamo za razmnoževanje ne glede da to, kaj počnemo na strani merjascev. V scenariju 1A bi se frekvenca alela P prepolovila v 11 oz. 12 generacijah, medtem ko bi se v scenariju 1B prepolovila že v 5 oz. 6 generacijah. Podobno je pri primerjavi scenarijev 2A in 2B (7 generacij nasproti štirim generacijam) in 3A in 3B (2-3 generacije nasproti 1-2 generacijam), medtem ko pri scenarijih 4A in 4B razpolovimo frekvenco alela P že v eni generaciji.

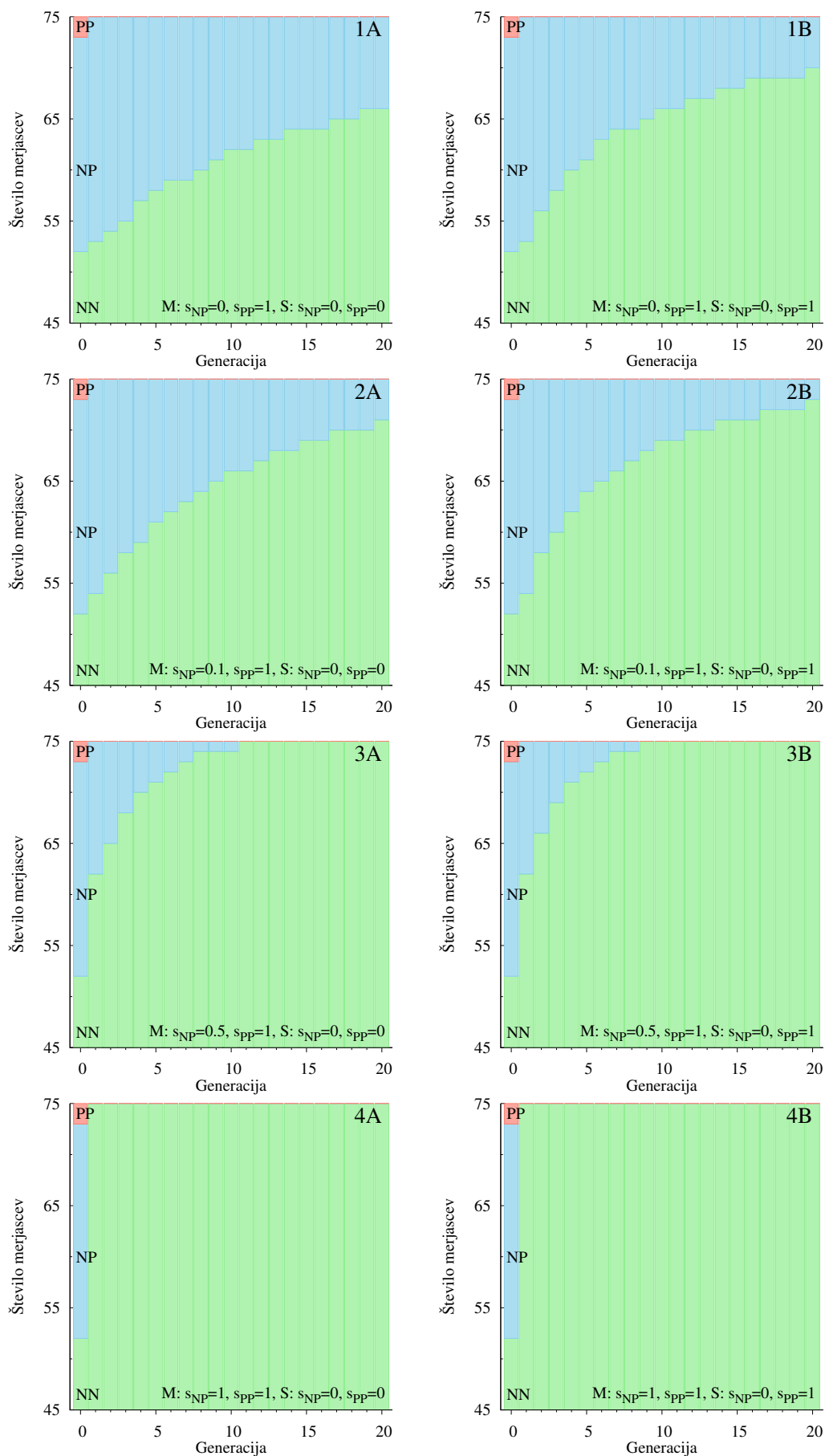
V scenarijih 4A in 4B se kompletno odpovemo tudi merjascem z genotipom NP, se pravi bi za razmnoževanje uporabljali le merjasce genotipa NN (slika 1). Vidimo lahko, da smo v tem primeru pričakovano najuspešnejši pri zmanjševanju frekvence alela P. Frekvenca alela P bi se razpolovila že v eni generaciji, po 10 generacijah pa bi lahko pričakovali, da se bomo alela P povsem znebili. Čeprav bi bil tovrsten pristop zelo privlačen, pa nosi v sebi nevarnost, da zelo zmanjšamo genetsko pestrost na preostalih lokusih v genomu in posledično povečamo tudi sorodnost med živalmi v populaciji. Zato bi tak pristop odsvetovali.

Precejšnje razlike lahko opazimo že glede na to, ali zgolj ne uporabljamo merjascev genotipa PP (grafikona 1A in 1B, slika 1) ali pa smo različno strogi pri odbiri merjascev genotipa NP. V primeru koeficienta selekcije pri merjascih genotipa NP 0.1 (grafikona 2A in 2B, slika 1) to pomeni, da mersimulMHS\_KP.lyxjascem tega genotipa za 10 % znižamo fitness v primerjavi z merjasci genotipa NN. Če primerjamo scenarija 1A in 2A, vidimo, da se prepolovitev frekvence alela P zgodi 4 generacije prej pri scenariju 2A kot pri scenariju 1A. Pri primerjavi scenarijev 1B in 2B glede tega, kdaj pride do prepolovitve frekvence alela P, je razlika bistveno manjša, le eno generacijo. Če se odločimo za koeficienta selekcije pri merjascih genotipa NP 0.5 (grafikona 3A in 3B, slika 1), pomeni, da merjascem tega genotipa za 50 % znižamo fitness v primerjavi z merjasci genotipa NN. V teh dveh scenarijih dosežemo prepolovitev frekvence alela P z začetnih 18 % v 2-3 generacijah (scenarij 3A) oz. 1-2 generacijah (scenarij 3B).

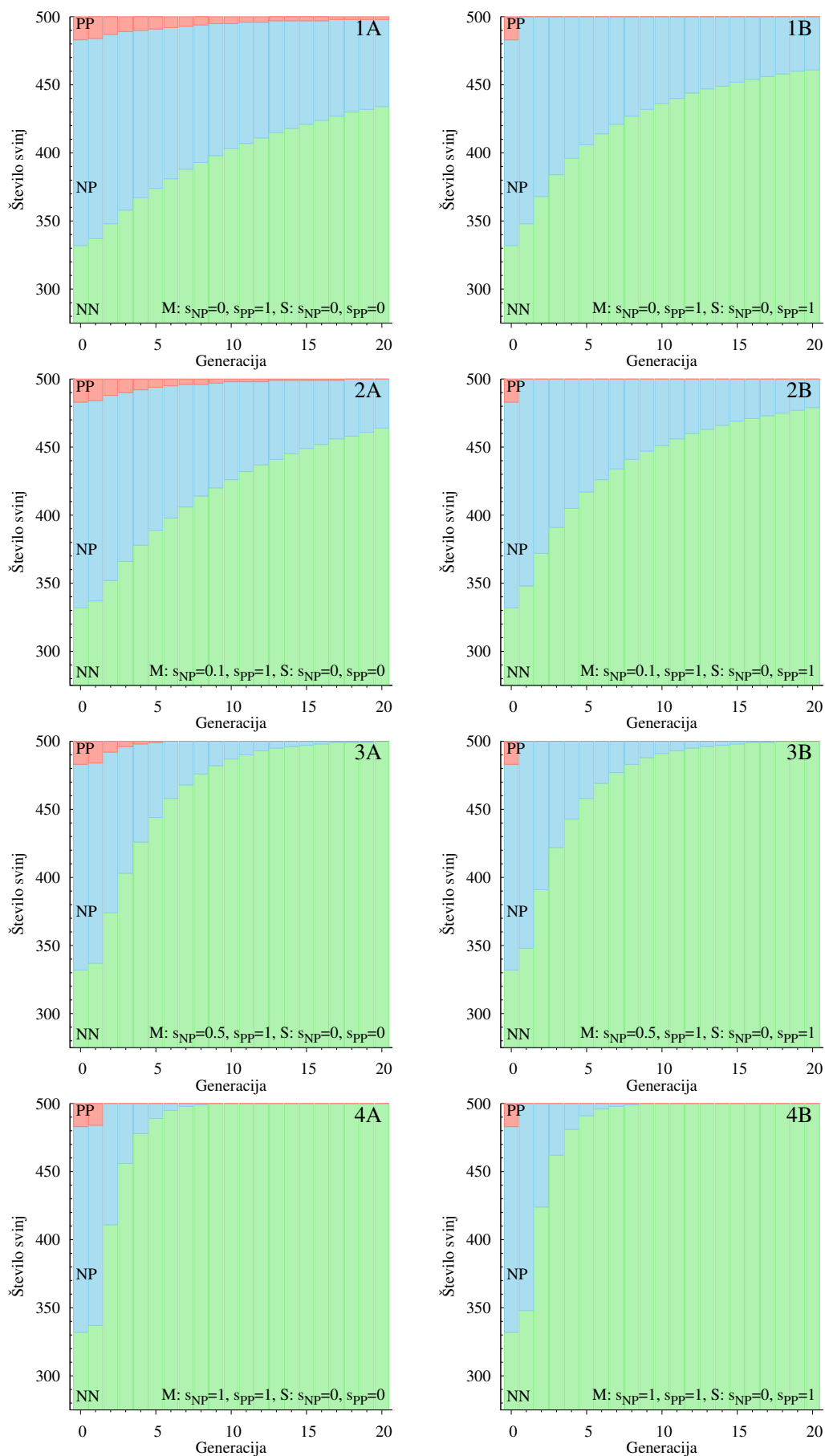
V simulaciji je bilo na osnovi pričakovanih frekvenc genotipov predpostavljeno, da je v 0-ti generaciji uporabljenih 75 merjascev (52 genotipa NN, 21 genotipa NP in 2 genotipa PP, slika 2) in 500 svinj (332 genotipa NN, 151 genotipa NP in 17 genotipa PP, slika 3). Ne glede na scenarij že v 1. generaciji v plemenski čredi pri merjascih nimamo genotipa PP, medtem ko se pri svinjah to v 1. generaciji zgodi pri scenarijih 1B-4B. Pri scenarijih 1A-4A, kjer pri svinjah ne omejujemo razmnoževanja genotipu PP, pa je pojavnost genotipa PP odvisna od koeficienta selekcije pri odbiri merjascev genotipa NP. Tako se v scenariju 1A svinje genotipa PP pojavijo tudi še v 20. generaciji (slika 3), v scenariju 2A jih ne pričakujemo več od 18. generacije naprej ter v scenarijih 3A od 6. in 4A



Slika 1: Spreminjanje frekvenc genotipov in alelov v populaciji na osnovi osmih scenarijev simulacije



Slika 2: Spreminjanje števila merjascev posameznih genotipov v populaciji na osnovi osmih scenarijev simulacije



Slika 3: Spreminjanje števila svinj posameznih genotipov v populaciji na osnovi osmih scenarijev simulacije

od 2. generacije naprej. V scenarijih 4A in 4B za razmnoževanje odbiramo le merjasce genotipa NN, zato imamo v plemenski čredi le merjasce tega genotipa (slika 2).

Na strani svinj pa bi po scenarijih 4A in 4B pričakovali, da bomo imeli le še genotip NN od 9. generacije naprej. Že zgoraj smo omenili, da obstaja nevarnost, da bi s tovrstnim pristopom preveč zmanjšali genetsko pestrost populacije krškopoljskega prašiča. Scenariji 2A, 2B, 3A in 3B so manj nevarni za zmanjšanje genetsko pestrost. Pri scenarijih 2A in 2B je pri svinjah zmanjševanje števila svinj z genotipom NP bolj postopno, pod 100 svinj tega genotipa dosežemo v 6. generaciji (scenarij 2A) oz. v 4. generaciji (scenarij 2B, slika 3), pod 50 svinj tega genotipa pa pridemo v 15. generaciji (scenarij 2A) oz. v 10. generaciji (scenarij 2B). Pri obeh omenjenih scenarijih imamo po 20. generaciji še vedno v plemenski čredi svinje genotipa NP. Scenarija 3A in 3B sta glede zmanjševanja frekvence alela P v populaciji ugodnejša (slika 1), hkrati se hitreje zmanjšuje število svinj genotipa NP v plemenski čredi: pod 100 svinj tega genotipa dosežemo v obeh scenarijih že v 3. generaciji in pod 50 v 6. generaciji (scenarij 3A) oz. v 5. generaciji (scenarij 3B). Alela P se pri svinjah znebimo v 20. generaciji pri scenariju 3A in v 18. generaciji pri scenariju 3B.

Za 5 in 10. generacijo v posameznih scenarijih rezultate prikazujemo še v tabeli 2. Povprečni generacijski interval pri krškopoljskem prašiču znaša okoli 2.5 let (Malovrh in sod., 2017; Pečnik, 2019), kar pomeni, da za pretek 5 generacij mine 12.5 let oz. 10 generacij predstavlja 25 let. Ker so generacije v realni populaciji prekrivajoče, in tako izvajamo odbiro v več generacijah praktično vzporedno, lahko pričakujemo, da bomo pri zmanjševanju frekvence alela P potrebovali manj let, kot je prikazano v simulaciji. Po 5 generacijah lahko pričakujemo, da bi imeli glede na priporočene scenarije (2A/2B, 3A/3B) frekvenco nezaželenega alela P med 3.2 in 10.8 % ter po 10 generacijah med 1.0 in 7.7 % (tabela 2). Po 5 generacijah bi plemensko čredo med 60 in 70 merjasci genotipa NN in med 15 in 5 merjasci genotipa NP. Pri svinjah bi plemensko čredo po 5 generacijah sestavljalo med 390 in 450 svinj genotipa NN, med 100 in 40 svinj genotipa NP ter v primeru, da dovoljujemo razmnoževanje tudi svinjam genotipa PP, do 6 svinj genotipa PP. Po 10 generacijah bi imeli za priporočene scenarije (2A/2B, 3A/3B) praktično le še merjasce genotipa NN ter med 430 in 490 svinj genotipa NN in med 70 in 10 svinj genotipa NP.

Tabela 2: Frekvenca alela P ( $Pr(P)$ ) v populaciji ter število plemenskih merjascev in svinj po genotipih v 5. in 10. generaciji v osmih scenarijih simulacije

Scenarij	$Pr(P)$	Merjasci		Svinje			Scenarij	$Pr(P)$	Merjasci		Svinje	
	(%)	$N_{NN}$	$N_{NP}$	$N_{NN}$	$N_{NP}$	$N_{PP}$		(%)	$N_{NN}$	$N_{NP}$	$N_{NN}$	$N_{NP}$
Generacija 5												
1A	12.7	58	17	374	117	9	1B	9.5	61	14	396	104
2A	10.8	61	14	389	105	6	2B	8.0	62	13	417	83
3A	4.3	71	4	444	55	1	3B	3.2	72	3	458	42
4A	0.6	75	0	489	11	0	4B	0.5	75	0	491	9
Generacija 10												
1A	10.3	62	13	403	92	5	1B	6.9	66	9	436	64
2A	7.7	66	9	426	72	2	2B	5.2	69	6	451	49
3A	1.4	74	1	487	13	0	3B	1.0	75	0	491	9
4A	0.0	75	0	500	0	0	4B	0.0	75	0	500	0

## 1.4 Sklepi

V primeru, da imamo v bodoče zadosti finančnih sredstev, da lahko izvajamo genski test na MHS pri vseh kandidatih za plemenske svinje, bi bilo smiselno, da tistih z genotipom PP ne uporabljamo za razmnoževanje. Prav

tako bo dobrodošlo tudi, če jih bo genotipiziranih le del in ne vse, npr. v gnezdh, pri katerih za starše vemo, da so nosilci alela P. Iz rezultatov simulacije pa se vidi tudi to, da če smo na strani merjascev strožji pri tem, koliko merjascev genotipa NP uporabimo v razmnoževanju, potem je na strani svinj manj pomembno, ali svinje genotipa PP uporabimo v razmnoževanju ali ne.

Na osnovi simulacije lahko rečemo, da bo v bodoče pri krškopoljskem prašiču - če želimo zmanjšati pojavnost ali celo odstraniti alel P - potrebno preverjati genotip MHS kandidatov za plemenske merjasce in ga upoštevati pri odbiri. Merjascev genotipa PP (tudi) v bodoče ne bi odbirali.

Najhitreje bi zmanjševali frekvenco nezaželenega alela P, če uporabljamo le merjasce genotipa NN. Vendar bi ta pristop lahko povzroči veliko škodo pasmi na račun zmanjšanja genetske pestrosti in povečanja sorodnosti. Boljši pristop bi bil, da v prvih generacijah ne omejujemo močno uporabe merjascev genotipa NP in se odločimo za vmesni pristop med scenarijema 2A/2B in 3A/3B v teh začetnih nekaj generacijah, v kasnejših generacijah pa koeficient selekcije za genotip NP postopno povečujemo.

Prisotnost alela P v populaciji krškopoljskega prašiča ni dobra reklama za avtohtono pasmo in izdelke iz mesa, saj vpliva na kakovost mesa pri naši avtohtoni pasmi (Tomažin in sod., 2017). Moramo pa pri tem seveda upoštevati, da genotip MHS ni edina lastnost, za katero bi želeli, da odlikuje krškopoljskega prašiča oz. vpliva na gospodarnost reje.

## Literatura

- 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.
- 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.
- Malovrh Š., Flisar T., Kovač M. 2017. Slovenske lokalne pasme prašičev. Genetska pestrost na osnovi porekla pri slovenskih lokalnih pasmah do vključno leta 2016. Domžale, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, 3–20.
- Pečnik Ž. 2019. Analiza genetske strukture krškopoljskega prašiča na osnovi rodovnika. Mag. delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Bioteh. fakulteta, Odd. za zoot. 99 str.
- SAS Inst. Inc. 2012. The SAS System for Linux, Release 9.4. Cary, NC.
- Tomažin U., Batorek Lukač N., Škrlep M., Prevolnik Povše M., Ogorevc J., Dovč P., Čandek-Potokar M. 2017. Meat quality of krškopolje pig as affected by RYR1 genotype. V: Proceedings of the 11th International Symposium Modern trends in Livestock Production, Belgrade, 2017-10-11/13. Petrović M.M. (ur.). Belgrade-Zemun, Institute for Animal Husbandry. 528–538.