

GENOMIKAI KUTATÁSOK A HAZAI HÚSMARHATENYÉSZTÉSBEN

ANTON ISTVÁN – ZSOLNAI ATTILA

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők, jelen tanulmányukban a hazai húsmarhatenyészttel kapcsolatos kutatásaik néhány eredményéről számolnak be. Angus marhák esetében a leptin (LEP) és a tyroglobulin (TG) lokuszoknál a TT genotípust hordozó bikáknál mérték az intramuszkuláris zsírtartalom legmagasabb értékeit a hosszú hátizomban (m. longissimus dorsi, LD) és a féliginas izomban (m. semitendinosus, ST). A diacilglicerol-aciltranszferáz 1 (DGAT1) lokusznál az AA/AA genotípusú bikák faggyútartalma az említett két izomban szignifikánsan meghaladta a többi genotípusnál mért értékeket. Magyar tarka fajtában három olyan SNP-t azonosítottak, amely kapcsoltságot mutatott ($-\log_{10}P > 9,5$) a Fertilitás tenyészték-indexszel (9., 28. és 29. kromoszómán) és két lokuszt, amely jelentős összefüggést ($-\log_{10}P > 22,7$) mutatott a Hús tenyészték-indexszel (2. és 11. kromoszómán). Emellett négy új lokusznál állapítottak meg kapcsoltságot ($-\log_{10}P > 12$) az intramuszkuláris zsírtartalom vonatkozásában (1., 6., 13. és 17. kromoszómán). Szürkemarha esetében hét SNP mutatott kapcsoltságot ($-\log_{10}P > 12,87$) a becsült tenyésztékkel (1., 3., 6., 9., 10. és 28. kromoszómán), illetve hat lokusz mutatott jelentős összefüggést ($-\log_{10}P > 11,50$) a szarv színével (1., 3., 9., 18. és 25. kromoszómán).

SUMMARY

Anton, I. – Zsolnai, A.: BEEF CATTLE GENOMICS RESEARCH IN HUNGARY

In this study, the authors provide a concise overview of their research results concerning beef cattle genomics in Hungary. Authors estimated the effect of Leptin (LEP), Thyroglobulin (TG), and Acyl-CoA diacylglycerol-acyltransferase 1 (DGAT1) loci on the marbling of meat in the Hungarian Angus population. At LEP and TG loci, TT bulls showed the highest fat percentage values in the musculus longissimus dorsi (LD) and musculus semitendinosus (ST), the difference between CC and TT genotypes was significant ($p < 0.05$). DGAT1 AA/AA bulls had significantly higher ($p < 0.05$) intramuscular fat content (IMF) values than other genotypes. In addition, researchers estimated the effect of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) on the Breeding value of fertility (BVF) and the Breeding value of beef (BVB) in Hungarian Simmental cattle. Three loci showed considerable association with BVF ($-\log_{10}P = 9.5, 9.9$, and 14.5 , respectively) on chromosomes 9, 28, and 29. Two loci showed association with BVB ($-\log_{10}P = 25.3$ and 22.7) on chromosomes 2 and 11, respectively. Besides, analyses revealed four loci highly associated ($-\log_{10}P > 12$) with IMF located on chromosomes 1, 6, 13, and 17, respectively. Another objective was to assess the effect of SNPs on the estimated breeding value (EBV) of Hungarian Grey bulls and to find markers associated with horn colour. Seven loci (on chromosome 1, 3, 6, 9, 10, 28) showed considerable association ($-\log_{10}P > 10$) with EBV. Six SNPs were identified to be associated ($-\log_{10}P > 10$) with green and white horns. These loci are located on chromosomes 1, 3, 9, 18, and 25.

BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Az utóbbi évtizedek állatgenetikai projektjeinek szerves részét képezik azok a kutatások, melyeknek célja a kvantitatív tulajdonságokat meghatározó lókuszok (Quantitative Traits Loci, QTL) azonosítása. Igazi áttörést ezen a területen a molekuláris genetikai markerek alkalmazása hozott. Ezek olyan DNS-polimorfizmusok, melyek a teljes genomban megtalálhatók. Legismertebbek az egypontos (egybázisos) nukleotid-polimorfizmusok (Single-Nucleotide Polymorphism, SNP), amelyek jellemzően két alléllal rendelkeznek. Számos célra felhasználhatók, ezek közül kiemelkedő jelentőségű a markerek segítségével végzett szelekció és a genomiális szelekció.

A markerek segítségével végzett szelekció (Marker Assisted Selection, MAS) legnagyobb előnye abban mutatkozik meg, hogy már az utódellenőrzés vagy a teljesítményvizsgálat előtt is előszelekciót tesz lehetővé. A nemkívánatos genotípusok előszelekcióval történő eltávolítása során javítható a tesztelésre kerülő állatok átlagos genetikai potenciálja. A markerekkel végzett szelekcióval ellentétben, a genomiális szelekció (Genomic Selection, GS) sűrű SNP markerhálózattal dolgozik. A teljes genomasszociációs vizsgálatok (Genome-Wide Association Study, GWAS) elvégzésére az egyik leggyakrabban alkalmazott eljárás az SNP-chip (vagy microarray) vizsgálat. A MAS mellett ma már a GS is elérhető közelségbe került a tenyésztők és szakemberek számára.

A következőkben olyan - a MAS és a GS témakörébe tartozó - egypontos nukleotid-polimorfizmus (SNP) vizsgálatok eredményeiről számolunk be, amelyek lehetővé tehetik a hazai szarvasmarhafajták hatékonyabb felhasználását.

A leptin (LEP), a diacilglicerol-aciltranszferáz 1 (DGAT1) és a tyroglobulin (TG) polimorfizmus hatása az intramuszkuláris zsírtartalomra magyarországi angus szarvasmarhákban (Anton és mtsai, 2011)

Szarvasmarha esetében a húsok márványozottságát az izmon belül, az izomrostok között elhelyezkedő faggyú (intramuszkuláris zsírtartalom) adja. A leptin gén szarvasmarhában a 4. kromoszómán helyezkedik el (Stone és mtsai, 1996). A LEP polimorfizmus szarvasmarhában kapcsolatba hozható a leptin szérumkoncentrációval, a takarmányfelvétellel, a tejtermeléssel (Liefers és mtsai, 2002), illetve a testösszetétellel (Buchanan és mtsai, 2002; Nkrumah és mtsai, 2004). A LEP promóter régió 528. pozíciójában található citozin/timin (C/T) polimorfizmus TT genotípusát hordozó állatok, a CC, ill. CT változatú állatokhoz képest 13%, ill. 8%-kal nagyobb intramuszkuláris zsírtartalommal rendelkeztek (Nkrumah és mtsai, 2005).

Barendse (1999) szerint a tyroglobulin (TG) gén 5' polimorfizmusa részt vesz az intramuszkuláris zsírtartalom szintjének meghatározásában. Thaller és mtsai (2003b) arra a következtetésre jutottak, hogy a TG leginkább a(z) LD faggyútartalmára van hatással. Sedykh és mtsai (2016) szerint a baskíriai limousine és hereford fajtában a TT genotípusú bikák intramuszkuláris zsírtartalma jelentősen meghaladta a másik két genotípusban mért értékeket.

Grisart és mtsai (2002), illetve Winter és mtsai (2002) megállapították, hogy a DGAT1 gén egy lizin/alanin (K232A) polimorfizmusa, amely szerepet játszik a

trigliceridek szintézisében, kapcsolatba hozható a tej zsírtartalmával, illetve az ST fattyúttartalmával. *Li és mtsai* (2013) svédországi húshasznosítású bikákban szintén megállapították az összefüggést a DGAT1 polimorfizmus egyes genotípusai és a hús márványozottsága között.

Vizsgálatunkban célul tűztük ki annak elemzését, hogy van-e pozitív hatása a leptin (LEP), a tyroglobulin (TG) és a diacilglicerol-aciltranszferáz 1 (DGAT1) gén egyes alléljainak az intramuszkuláris zsírtartalomra itthon tenyésztett angus szarvasmarhafajta esetében.

Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok hatása a fertilitás tenyészték-indexre (FerTI) és a hús tenyészték-indexre (HTI) magyar tarka szarvasmarhában (Anton és mtsai, 2018a)

A Magyartarka Tenyésztők Egyesülete a tenyésztési munkában a tenyésztékbecslés adataira támaszkodik, amely több szempontot is figyelembe vesz. A fajta versenyképességét elsősorban a vágóértékre és húsminőségre irányuló szelekcióval lehet megalapozni és biztosítani (*Füller*, 2010). Az utóbbi években elterjedt a szelekciós indexek használata, amely egy számjeggyel fejezi ki egy állat - több tulajdonság alapján meghatározott - tenyésztékét. Tenyésztési szempontból fontos lépés volt a Kettőshasznú termelési index (KTI) bevezetése, ahol a Tej tenyészték-index (TTI) 40%-os, a Hús tenyészték-index (HTI) 30%-os, a Fitnesz tenyészték-index (FTI) pedig szintén 30%-os súlyozással szerepel. Az indexalkotó tulajdonságok optimális súlyozásával az - egymással ellentétes kapcsolatban levő - értékmérők (tej-hús-fitnesz) esetében is biztosítható a megfelelő mértékű előrelépés (*Húth és mtsai*, 2013). Ezzel egyidejűleg fontos szerepet kap napjainkban a genomikai becslésre alapozott szelekció is, amely - kiegészítve a hagyományos eljárást - gyors és hatásos segítséget nyújthat a tenyésztési munkában.

Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok hatása az intramuszkuláris zsírtartalomra magyar tarka szarvasmarhában (Anton és mtsai, 2018b)

A modern állattenyésztés egyik fő feladata a fogyasztók igényeinek jó minőségű, biztonságos és ízletes termékekkel történő kielégítése. Ez az igény a szarvasmarha-tenyésztésben fokozottan jelentkezik, ugyanis az elmúlt években alkalmazott tenyésztési stratégia a színhústermelés növeléséhez, illetve az intramuszkuláris zsírtartalom (IMF) csökkenéséhez vezetett (*Hocquette és mtsai*, 2010). A márványozott húsok ugyanakkor ízletesebbek, porhanyósabbak (*Koohmaraie és mtsai*, 2002; *Thompson*, 2004) és számos országban, ahol a sült marhahúsfogyasztásnak nagy hagyománya van, ez a húsminőség egyik fontos ismérve.

A DNS chip-vizsgálatra alapozott teljes genomvizsgálat (GWAS, Genome-Wide Association Study) alkalmas szarvasmarhában azon SNP-k kiválogatására, amelyek segítségével javítható az IMF és ezáltal a húsminőség.

Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok hatása a becsült tenyésztértékre és a szarv színére magyarországi szürkemarha állományokban (Zsolnai és mtsai, 2021)

A tenyésztői munkát az 1989-ben megalakult Magyar Szürke Szarvasmarhát Tenyésztők Egyesülete (MSZTE) koordinálja, és eredményességüket jelzi, hogy a fajta létszáma napjainkban elérte a harmincezer tenyészegységet (Szűcs, 2020).

A tenyésztési munkában, illetve a felmerülő szelekciós döntések során a MSZTE jelentős mértékben figyelembe veszi az állatok tenyésztértékét, ami tulajdonképpen egy egyednek, mint genetikai szülőnek az átörökítő képességére utaló értéke. Az MSZTE egyelőre a hagyományos tenyésztértékbecslési módszerekre támaszkodik, de az itthon egyes fajtákban (pl. magyar tarka, limousin) már sikeresen alkalmazott genomikai szelekció még nem képezi a napi munka részét.

A szürkemarha szarvának mind formájára, mind pedig színeződésére nagymértékű változatosság jellemző. A színváltozatok tekintetében három fő szarvszín különíthető el: a fehér, a zöld és a kettő kombinációjából adódó kártyás szarvszín (Radácsi és mtsai, 2008). Megállapításuk szerint a zöld szarvszín gyakorisága szempontjából nincs különbség az egyes vonalak, illetve a különböző életkorú és ivarú állatok között. A fajta első sztenderdjének leírásában (Meissner, 1929) a zöld szarvszín még kizáró tényezőként szerepelt. A jelenlegi állomány kb. 30%-ában előforduló zöld szarvszín viszont ma már elfogadott színváltozatnak tekinthető, így számos tenyésztő ezt preferálja. Kutatásunk célja ezért olyan SNP-markerek felkutatása volt, amelyek kapcsolatban vannak az MSZTE által becsült tenyésztértékkel és a szarv színével a hazai szürkemarha populációban.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgálatainkban SNP markereket és kétféle meghatározási technikát alkalmaztunk. Az egygénes vizsgálatoknál PCR-RFLP módszert használtunk, a teljes genomelemzéseknél pedig chip-vizsgálatot (Illumina Bovine/Porcine HD Chip) alkalmaztunk.

A leptin, a DGAT1 és a TG polimorfizmus hatása az intramuszkuláris zsírtartalomra magyarországi angus szarvasmarhákban

Különböző hazai állományokból származó 173 angus bika hizlalását és vágását kísértük figyelemmel. Vágáskor minden állatból húsmintát (m. longissimus dorsi, LD és m. semitendinosus, ST) és vérmintát gyűjtöttünk. A húsmintákból meghatároztuk az intramuszkuláris zsírtartalmat, a vérmintákból pedig az állatok - mindhárom lókuszra vonatkozó - genotípusát. A LEP, a DGAT1 és a TG polimorfizmusok vizsgálatára, illetve ezek kapcsán az allélfrekvenciák kiszámítására PCR-RFLP módszert használtunk.

A vizsgálatokhoz a következő primereket alkalmaztuk:

LEP polimorfizmus:

primer 1: 5'-CATTGC GTG CAA GCT TCT CAC T-3'

primer 2: 5'-(T)24CGA GCC CAA GCT CCA GAG CCT-3'

DGAT1 polimorfizmus:

primer 1: 5'-(T)₃₀ CGC TTG CTC GTA GCT TTG G-3'

primer 2: 5'-CAC CGC GGT AGG TCA GGT TGT C-3'

TG polimorfizmus:

primer 1: 5' GGGGATGACTACGAGTATGACTG 3'

primer 2: 5' GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGTA 3'

A húsminták faggyútartalmának, ill. az állatok genotípusának meghatározását követően asszociációs vizsgálatokat végeztünk az összefüggések megállapítására.

Adataink elemzését SPSS 15 for Windows szoftverrel (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) végeztük. Az általános lineáris modellt (GLM) használtuk mindhárom polimorfizmus vizsgálatára, az alábbi képlet szerint:

$$y_{ijkl} = \mu + Lep_i + TG_j + DGAT_k + TG_j * DGAT_k + e_{ijkl}$$

ahol y a vizsgált tulajdonság (pl. az LD/ST intramuszkuláris zsírtartalma), μ a középérték, Lep a leptin hormon genotípusait (CC, TC, TT), TG a TG polimorfizmus genotípusait (CC, TC, TT), $DGAT$ pedig a DGAT1 polimorfizmus genotípusait (AA/AA, AA/GC, GC/GC) jelenti, e pedig a maradék hibát jelöli.

Mindhárom polimorfizmusnál kiszámoltuk az allélfrekvenciákat, ill. elvégeztük a Hardy-Weinberg egyensúly vizsgálatát is (χ^2 teszt).

Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok hatása a fertilitás tenyészték-indexre (FerTI) és a hús tenyészték-indexre (HTI) magyar tarka szarvasmarhában

FerTI becslés

A bikáknál nem áll rendelkezésre közvetlen módszer a fertilitás-tenyészték megállapítására. Ebben az esetben a nőivarú utódok tenyésztékének megítéléséből lehet becsülni a bikák FTI-értékét. Ilyenkor a nőivarú utódok sikeres termékenyüléséhez szükséges termékenyítések számát, illetve a termékenyítést követő 56. napig vissza nem ivarzó arányát (NR56) vizsgálják.

HTI becslés

A kettős hasznosítású magyar tarka fajtában a hús tenyészték-index meghatározása a súlygyarapodás, a vágási % és az EUROP izmoltság pontszámai alapján történik. A nettó súlygyarapodás 0,22, a vágási százalék és az EUROP izmoltság pedig 0,39-0,39 súlyozással szerepel a képletben:

$$HTI = 0,22 \text{ nsgyt} + 0,39 \text{ v\%t} + 0,39 \text{ EUROPt}$$

(nsgyt = nettó súlygyarapodás tenyészték; v%t = vágási % tenyészték; EUROPt = EUROP izmoltság tenyészték)

Mintavétel, tipizálás

Tizenegy különböző telepről származó, összesen 146 magyar tarka bikából származó vérmintát gyűjtöttünk az állatok vágása során, melyeket -20°C-on tároltunk a DNS kivonásáig. A minták kiválasztásánál fontos szempont volt, hogy a vizsgálatba vont egyedek lehetőség szerint ne álljanak rokoni kapcsolatban egymással. A Magyar Tarka Tenyésztők Egyesületének adatbázisából kigyűjtöttük az állatok tenyésztési adatait, illetve a tenyésztékbecslés során szerzett tenyésztési indexek értékeit.

A DNS kivonását követően a tipizálást nagy sűrűségű DNS chipen (Illumina Bovine HD Chip, San Diego, CA, USA) végeztettük el (Neogen Europe Ltd., Skócia, Egyesült Királyság).

Vizsgálatainkban csak a 95%-nál magasabb tipizálási eredményességgel rendelkező SNP-ket vettük figyelembe. A duplikált mintákat (Identity By Descent, IBD > 0,95) kizártuk az adatállományból.

Az adatszűréshez és a FerTI-vel, ill. HTI-vel kapcsoltságot mutató lókuszok azonosításához multi-lókusz vegyes modellt alkalmaztunk. A fenotípusos értékeket folyamatos változóként kezeltük. A használt multi-lókusz vegyes modell a következő volt:

$$y = X\beta + Zu + e$$

ahol y a fenotípusos érték (FerTI, HTI), X az SNP-k és a kovarianciákból (kor és telep) álló fix hatások mátrixa, Z a véletlen állati hatás mátrixa, e a maradék hatásokat jelenti, β és u a fix és a véletlen hatások együtthatóit képviselő vektorok.

Az azonosított SNP-k közelében levő géneket az Ensemble cow UMD3.1 és Gene ontology (Ashburner és mtsai, 2000) adatbázis alapján tártuk fel. Az összes adatformázást, szűrést és statisztikai elemzést az SNP & Variation Suite v.8.8.1 (Golden Helix, Bozeman, MT, USA) szoftverrel végeztük.

Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok hatása az intramuszkuláris zsírtartalomra magyar tarka szarvasmarhában

Tizenegy különböző telepről származó, összesen 146 magyar tarka szarvasmarhából hús- és vérmintát gyűjtöttünk az állatok vágása során. Az állatokat hasonló körülmények között tartották, ugyanazt a takarmányt fogyasztották és hasonló vágósúly ($530,6 \pm 44,7$ kg) elérése után kerültek levágásra a Magyar Szabvány előírásai szerint. Vágáskor a 11. és 13. borda közötti ún. hármask bordarészt kivágtuk a hosszú hátizomból. A húsmintákat folyékony nitrogénben -196°C -on, a vérmintákat pedig -20°C -on tároltuk a vizsgálatok elvégzéséig. A húsminták intramuszkuláris zsírtartalmának meghatározását a Soxhlet módszerrel végeztük. A vizsgált minták zsírtartalma (IMF) 0,5% és 5,8% között változott. A DNS vérmintákból történt kivonása után a tipizálást nagy sűrűségű DNS chipen (Illumina Bovine HD Chip, San Diego, CA, USA) végeztettük el (Neogen Europe Ltd., Skócia, Egyesült Királyság). Az összes adatformázást, szűrést és statisztikai elemzést az SNP & Variation Suite v. 8.8.1 (Golden Helix, Bozeman, MT, USA) szoftverrel végeztük. Vizsgálatainkban csak a 95%-nál magasabb tipizálási eredményességgel rendelkező SNP-ket vettük figyelembe. A duplikált mintákat (Identity By Descent, IBD > 0,95) kizártuk az adatállományból.

Az adatszűréshez és az intramuszkuláris zsírtartalommal kapcsoltságot mutató lókuszok azonosításához vegyes multi-lókusz modellt alkalmaztunk. A fenotípusos értékeket folyamatos változóként kezeltük. A használt vegyes multi-lókusz modell a következő volt:

$$y = X\beta + Zu + e$$

ahol y a fenotípusos érték (IMF), X az SNP-k és a kovarianciákból (kor és ivar) álló fix hatások mátrixa, Z a véletlen állati hatás mátrixa, e a maradék hatásokat jelenti, β és u a fix és a véletlen hatások együtthatóit képviselő vektorok.

Az azonosított SNP-k közelében levő géneket az Ensemble cow UMD3.1 és Gene ontology (Ashburner és mtsai, 2000) adatbázis alapján helyeztük el.

Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok hatása a becsült tenyésztértékre és a szarv színére magyarországi szürkemarha állományokban

Tizenhat tenyészetből származó 136 magyar szürke (MSZ) bikából gyűjtöttünk vérmintát, a Magyar Szürke Szarvasmarhát Tenyésztők Egyesülete (MSZTE) által szervezett, szokásos állategészségügyi vérvételek alkalmával. A vérmintákat -20°C-on tároltuk, majd a DNS vérmintákból történt kivonása után, a tipizálást nagy sűrűségű SNP-chipeken (Illumina GeneSeek GGP Bovine 150K SNP chip, San Diego, CA, USA) végeztettük el (Neogen Europe Ltd., Skócia, Egyesült Királyság). A vérvételre a bikákat az MSZTE jelölte ki úgy, hogy egyrészt az alacsony és magas tenyésztértékkel rendelkező állatok csoportja is reprezentálva legyen (44 -188 közötti értékkel), másrészt pedig a fehér- és zöldszarvú állatok is megfelelő számban előforduljanak a vizsgálatban. Az MSZTE 100 - 300 napos bikákat jelölt ki a vizsgálatra, a tenyésztértékbecsléshez pedig a születési súlyt, a súlygyarapodást, a 205 napos élősúlyt, illetve az anyai hatást vette figyelembe. Az értékelést a *Bene és mtsai* (2013) által ismertetett módszer szerint végezték és az alábbi képletet használták:

$$y = Xb + Zu + Wm + Spe + e$$

ahol y a becsült tenyésztérték, X a fix hatások előfordulási mátrixa (tenyészet, ellés, születési idő), Z a véletlen hatások előfordulási mátrixa; W az anyai genetikai hatás előfordulási mátrixa; S az anya állandó környezeti hatásának előfordulási mátrixa és e a hiba vektor, b a fix hatás(ok) vektora, u a véletlen hatás vektora (egyed); m az anyai genetikai hatás vektora; pe az anya állandó környezeti hatásának vektora.

A statisztikai elemzést az SNP & Variation Suite v.8.8.1 (Golden Helix, Bozeman, MT, USA) szoftverrel végeztük.

Duplikált mintákat (Identity By Descent, IBD > 0,95) és 95%-nál alacsonyabb tipizálási eredményességgel (call rate) rendelkező SNP-eket nem találtunk, így minden mintát értékelni tudtunk.

A szarv színével és a becsült tenyésztértékkel kapcsoltságot mutató lókuszok azonosításához vegyes multi-lókusz modellt alkalmaztunk.

A szarv színének vizsgálatához csak a kifejezetten fehér ($N = 26$), illetve zöld ($N = 81$) színt mutató bikákat vizsgáltuk, míg az átmeneti (kártyás) szarvszínű ($N = 29$) regisztrált állatokat kizártuk az analízisből.

A becsült tenyésztértékek (EBV, estimated breeding value) genetikai hátterének vizsgálatát minden bikánál az MSZTE által becsült pontszámok (EBV_p) alapján végeztük el. A tenyésztértékbecslést az MSZTE munkatársai az alábbi képlet szerint végezték:

$$EBV_p = 100 + 20 * ((EBV - EBV_{MEAN}) / \sigma_{EBV})$$

ahol EBV_{MEAN} a becsült tenyésztérték átlagát jelöli, σ_{EBV} pedig az átlagtól való eltérést.

A populációszerkezet korrekciójához genomális rokonsági mátrixot alkalmaztunk, vegyes multi-lókusz modell formájában (*Segura és mtsai*, 2012).

A használt modell:

$$y = X\beta + Zu + e$$

ahol y a fenotípusos érték, X az SNP-k és kovarianciákból (születési év és gazdaság) álló fix hatások mátrixa, Z a véletlen állati hatás mátrixa, e a maradék hatásokat jelenti, β és u a fix és a véletlen hatások együtthatóit képviselő vektorok.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A leptin, a DGAT1 és a TG polimorfizmus hatása az intramuszkuláris zsírtartalomra magyarországi angus szarvasmarhákban

A várt és valós genotípus-frekvenciák közötti különbség nem volt szignifikáns, ami mindhárom polimorfizmusnál a Hardy-Weinberg egyensúly fennállását jelenti.

1. táblázat

A hosszú hátizom (LD) és a féliginas izom (ST) intramuszkuláris zsírtartalmának legkisebb négyzetes átlaga és sztenderd hibája, a variancia (%), valamint az additív és dominancia-hatás a vizsgált angus bikáknál

Lókusz (1)	Genotípus (2)		i.m. zsír (%) LD (3)	i.m. zsír (%) ST (4)
Leptin (n=173)	CC (n=97)	LSM±SE	14,43± 0,90	8,88± 0,51 ^a
	TC (n=66)		14,41± 0,95	8,62± 0,53 ^a
	TT (n=10)		15,45± 1,25	12,52± 0,92 ^b
	variancia (%)# (5)		0	0,1
	additív hatás (6)		0,51	1,82*
	dominancia (7)		0,53	2,08*
TG (n=173)	CC (n=79)	LSM±SE	14,39± 1,44 ^a	9,36± 0,802 ^a
	TC (n=71)		12,76± 1,34 ^a	9,23± 0,747 ^a
	TT (n=23)		17,14± 1,62 ^b	11,43± 0,90 ^b
	variancia (%)# (5)		2,3	7,1
	additív hatás (6)		1,38*	1,04*
	dominancia (7)		3,01*	1,17*
DGAT1 (n=173)	AA/AA (n=9)	LSM±SE	18,08±2,16 ^a	12,06±1,2 ^a
	AA/GC (n=48)		13,33±1,4 ^b	8,91±0,79 ^b
	GC/GC (n=116)		12,87±1,2 ^b	9,04±0,68 ^b
	variancia (%)# (5)		7,1	7,0
	additív hatás (6)		2,61*	1,51*
	dominancia (7)		2,15*	1,64*

^{a-b} az eltérő betűk a genotípusok közötti szignifikáns különbséget jelölik (8)

a vizsgált lókusznak tulajdonítható variancia (%) a teljes fenotípusos variancián belül (9)

* megbízhatósági szint (p<0,05) (10)

Table 1. Least square mean and standard error of the intramuscular fat content of musculus longissimus dorsi (LD) and musculus semitendinosus (ST), the variance (%), and additive and dominance effects in angus bulls

locus (1); genotype (2); intramuscular fat (LD)(3); intramuscular fat (ST) (4); variance (5); additive effect (6); dominance (7); ^{a-b} different letters means significant difference between genotypes (8); # variance (%) caused by the loci investigated within the total phenotype variance (9); * confidence level (p<0.05) (10)

A TT (TG lókuszt) és AA/AA (DGAT1 lókuszt) genotípusú bikáknál mértük az intramuszkuláris zsírtartalom legmagasabb értékeit. Itt az AA/AA genotípusnál, a többi genotípushoz képest szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p < 0,05$). A LEP lókusznál a genotípus nem volt hatással az intramuszkuláris zsírtartalomra. A féliginas izomnál a LEP és a TG lókusznál a TT genotípusú, a DGAT1 lókusznál pedig az AA/AA genotípusú bikák esetében tapasztaltunk szignifikánsan magasabb faggyútartalmat a többi genotípushoz viszonyítva.

A TG és DGAT1 genotípusok esetében mért faggyútartalom jelentősen meghaladta a *Thaller* és *mtsai* (2003) által holstein-fríz és charolais fajtában kapott értékeket.

A leptin esetében kapott genotípus-frekvenciák megoszlása hasonló a *Nkrumah* és *mtsai* (2005) által publikált értékekhez.

Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok hatása a fertilitás tenyészték-indexre (FerTI) és a hús tenyészték-indexre (HTI) magyar tarka szarvasmarhában

2. táblázat

A FerTI-vel és a HTI-vel kapcsoltságot mutató lókusztok, genomi elhelyezkedésük, illetve a közelükben található fontosabb gének

Marker	Kromoszóma: pozíció (1)	$-\log_{10}P$	$-\log_{10}P$ Bonferroni korrekció után (2)	Közelgi gének (3)	Kapcsoltság (4)	MAF (5)	FDR (6)
rs41628842	2: 111962847	25,3	20,4	ACSL3, RPS6, KCNE4	HTI (7)	0,438	1,9e-21
rs133063240	11: 27988487	22,7	17,8	PRKCE	HTI (7)	0,229	4,9e-19
rs41656753	9: 29910981	9,5	4,7	GJA1, TBC1D32, SNORA25	FerTI (8)	0,375	2,4e-3
rs42151703	28: 42540318	9,9	5,1	GPRIN2, GDF2, GDF10	FerTI (8)	0,355	4,3e-6
rs137311103	29: 3901625	14,5	9,7	FAT3, CHORDC1, HSP90	FerTI (8)	0,354	2,1e-10

FerTI: Fertilitás tenyészték-index, HTI: Hús tenyészték-index, MAF: minor allélfrekvencia (Minor Allele Frequency), FDR: téves azonosítási ráta (False Discovery Rate)

Table 2. Genom localisation and nearby genes of loci linkage with Fertility Breeding Index (FerTI) and Beef Breeding Index (HTI)

chromosome: position (1); $-\log_{10}P$ after Bonferroni correction (2); nearby genes (3); linkage (4); minor allele frequency (5); false discovery rate (6); beef breeding index (7); fertility breeding index (8)

A FerTI esetében, az SNP genotípusok és az MTE adatbázisából kigyűjtött adatok közötti asszociációs vizsgálatok három lókusznál, a 9., a 28. és a 29. kromoszómán mutattak ki kapcsoltságot ($-\log_{10}P = 9,53$; $9,94$ és $14,55$). A minor allélfrekvencia értékei a három lókusznál a következők voltak: $0,375$; $0,355$ és $0,354$.

A HTI szempontjából hét lókuszt közül ($-\log_{10}P > 5$) kettő tűnik alkalmasnak szelekciós felhasználásra, ezek a 2. és 11. kromoszómán helyezkednek el.

Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok hatása az intramuszkuláris zsírtartalomra magyar tarka szarvasmarhában

A vizsgálat során négy olyan lókuszt azonosítottunk, amely kapcsoltságot mutat az intramuszkuláris zsírtartalommal.

3. táblázat

Az IMF-tartalommal kapcsoltságot mutató lókusztok, genomi elhelyezkedésük, illetve a közelükben található fontosabb gének

Marker	Kromoszóma: pozíció (1)	$-\log_{10}P$	$-\log_{10}P$ Bonferroni korrekció után (2)	Közelgi gének (3)	MAF (4)	FDR (5)
rs43284251	1: 154894091	12,2	7,1	GALNT15 DPH3 ANKRD28	0,426	2,6e-8
rs109210955	6: 39358026	16,3	11,2	LAP3 MED28 FAM184B (685720), DCAF16 NCAPG LCORL	0,221	2,4e-12
rs41630030	13: 54540476	15,5	10,4	ARFRP1 TNFRSF6B	0,162	1,3e-11
rs41642251	17: 26689850	21,7	16,7	PRAME U1	0,106	2,6e-17

MIF: minor allél frekvencia; FDR: téves azonosítási ráta (false discovery rate)

Table 3. Genom localisation and nearby genes of loci linkage with intramuscular fat content

chromosome: position (1); $-\log_{10}P$ after Bonferroni correction (2); nearby genes (3); minor allele frequency (4); false discovery rate (5)

Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok hatása a becsült tenyésztésre és a szarv színére magyarországi szürkemarha állományokban

A vizsgálat során hét lókuszt esetében ($-\log_{10}P > 10$) találtunk kapcsoltságot (1., 3., 6., 9., 10. és 28. kromoszómán) a becsült tenyésztéssel.

4. táblázat

A becsült tenyészártékkal kapcsolságot mutató lókuszok, genomi elhelyezkedésük, illetve a közelükben található fontosabb gének

Marker	Kromoszóma: pozíció (1)	$-\log_{10}P$	Közei gének (2)	MAF (3)	FDR (4)
rs132773663	1:13683821	30,81	NCAM2	0,006	6,5e-27
rs134031509	1:17714938	14,86	NCAM2, TSPRSS15, CHODL, CXADR	0,047	3,5e-11
rs133382330	3:66794402	12,87	ADGRL4, DNAJB4, MIGA1, USP33	0,012	2,4e-09
rs135749221	6:112969332	30,71	WDR1, HS3ST1, NKX3-2	0,018	6,1e-27
rs109808712	9:30597711	13,66	SERINC1, HSF2, GJA1, TBC1D32, MAN1A1, MCM9, ASF1A, SLC35F1	0,012	4,5e-10
rs43651134	10:90679288	36,21	VIPAS39, SNW1, NRXN3, DIO2, TSHR	0,012	7,7e-32
rs137560472	28:38224444	30,92	DYDC1, DYDC2, TSPAN14, GHITM, CCSER2	0,018	7,5e-27

MAF= minor allélfrekvencia; FDR: téves azonosítási ráta (false discovery rate)

Table 4. Genom localisation and some important nearby genes of loci linkage with estimated breeding value

chromosome: position (1); nearby genes (2); minor allele frequency (3); false discovery rate (4)

A vizsgálat során hat lókusz esetében ($-\log_{10}P > 10$) találtunk kapcsolságot (1., 3., 9., 18. és 25. kromoszómán) a szarv színével.

5. táblázat

A szarv színével kapcsolságot mutató lókuszok, genomi elhelyezkedésük, illetve a közelükben található fontosabb gének

Marker	Kromoszóma: pozíció (1)	$-\log_{10}P$	Közei gének (2)	MAF (3)	FDR (4)
rs42907907	1: 94860836	15,27	SPATA16, GPX5, ECT2, GHSR	0,073	1,3e-11
rs135440681	3: 7761414	11,50	SH2D1B, ATF6, FCRLB, FCBP2B, HSPA6	0,378	6,6e-8
rs41593372	9: 57616379	18,26	EPHA7	0,427	1,7e-14
rs43602859	9:86470128	25,53	UST, TAB2	0,439	1,8e-21
rs110433116	18: 53199067	26,67	APOE	0,269	2,7e-22
rs108961742	25: 39404142	21,73	FSCN1, ACTB, FBXL18	0,110	7,8e-18

MAF= minor allélfrekvencia; FDR: téves azonosítási ráta (false discovery rate)

Table 5. Genom localisation and some important nearby genes of loci linkage with the colour of horn

chromosome: position (1); nearby genes (2); minor allele frequency (3); false discovery rate (4)

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Az SNP-eredmények lehetővé teszik fajták nemzetközi összehasonlítását, populációgenetikai elemzések elvégzését, illetve új vizsgálatok tervezését.

Az ismertetett genomikai tesztek jól kiegészítik a hagyományos tenyésztéértékbecslés eredményeit, de egyelőre nem minden esetben helyettesítik azokat. Az SNP chip-vizsgálatok eredményei felhasználhatók szelekciós célra is. Így lehetőség nyílik olyan tulajdonságokra is szelektálni, amelyekre a jelenlegi szelekciós szempontok, ill. a hagyományos genomikai tenyésztéértékbecslés nem terjednek ki.

Amennyiben a chip-vizsgálatok a jövőben a rutin eljárások részét képeznek, a kapott SNP-eredmények felhasználásával - külön költség nélkül - elvégezhető lenne a jelenleg még mikroszatellit-vizsgálatokon alapuló származásellenőrzés is.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönik az OTKA támogatását (T048947, CK78174, K111643 sz. pályázatok), továbbá köszönik Dr. Holló Gabriellának, a Magyarartarka Tenyésztők Egyesületének és a Magyar Szürke Szarvasmarhát Tenyésztők Egyesületének a kutatások elvégzésében nyújtott segítségét.

IRODALOMJEGYZÉK

- Anton, I. – Kovács, K. – Holló, G. – Farkas, V. – Lehel, L. – Hajda, Z. – Zsolnai, A. (2011): Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. *Livest. Sci.*, 135. 300-303.
- Anton, I. – Húth, B. – Füller, I. – Gábor, Gy. – Holló, G. – Zsolnai, A. (2018a): Effect of single-nucleotide polymorphisms on the breeding value of fertility and breeding value of beef in Hungarian Simmental cattle. *Acta Vet. Hung.*, 66. 215-225.
- Anton, I. – Húth, B. – Füller, I. – Rózsa, L. – Holló, G. – Zsolnai, A. (2018b): Effect of single nucleotide polymorphisms on intramuscular fat content in Hungarian Simmental cattle. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 31. 1415-1419.
- Ashburner, M. – Ball, C. A. – Blake, J. A. – Botstein, D. – Butler, H. – Cherry, J. M. – Davis, A. P. – Dolinski, K. – Dwight, S. S. – Eppig, J. T., – Harris, M. A. – Hill, D. P. – Issel-Tarver, L. – Kasarskis, A. – Lewis, S. – Matese, J. C. – Richardson, J. E. – Ringwald, M. – Rubin, G. M. – Sherlock, G. (2000): Tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat. Genet.*, 25. 25-29.
- Barendse, W. J. (1999): Assessing lipid metabolism. Patent. International Publication Number: WO 99/23248. World Intellectual Property Organization, Geneva.
- Bene, Sz. – Gicz, A. – Rádl, A. – Polgár, J. P. – Szabó, F. (2013): Többfajtás tenyésztéértékbecslés a választási eredmények alapján egy hazai húsmarha állományban. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 62. 218-233.
- Buchanan, F. C. – Fitzsimmons, C. J. – Van Kessel, A. G. – Thue, T. D. – Winkelman-Sim, C. – Schmutz, S. M. (2002): Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet. Sel. Evol.*, 34. 105-116.
- Füller, I. (2010): Hústermelőképesség-javításra irányuló szelekció továbbfejlesztése a magyartarka fajtában. Doktori (PhD) értekezés. Kaposvári Egyetem, Kaposvár
- Grisart, B. – Coppieters, W. – Farnir, F. – Karim, L. – Ford, C. – Berzi, P. – Cambisano, N. – Mni, M. – Reid, S. – Simon, P. – Spelman, R. – Georges, M. – Snell, R. (2002): Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Res.*, 12. 222-231.

- Hocquette, J. F. – Gondret, F. – Baéza, E. – Médale, F. – Jurie, C. – Pethick, D. W. (2010): Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal*, 4. 303-319.
- Húth, B., Holló, I., Füller, I., Polgár, J. P., Komlósi, I. (2013): Breeding and selection strategy in Hungarian Simmental cattle. *Állattenyésztés és Takarmányozás* 62. 384-397.
- Koohmaraie, M. – Kent, M. P. – Shackelford, S. D. – Veiseth, E. – Wheeler, T. L. (2002): Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? *Meat Sci.*, 62., 345-352.
- Li, X. – Ekerljung, M. – Lundström, K. – Lundén, A. (2013): Association of polymorphisms at DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1 and CAST genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. *Meat Sci.*, 94. 153-158.
- Liefers, S. C. – Te Pas, M. F. W. – Veerkamp, R. F. – Van der Lende, T. (2002): Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, 85. 1633-1638.
- Meissner, K. (1929): A magyarfajta szarvasmarha standardja. *Köztelek*, 39. 150-151.
- Nkrumah, J. D. – Li C. – Yu, J. – Basarab, J. A. – Guercio, S. – Meng, Y. – Murdoch, B. – Hansen, C. – Moore, S. S. (2004): Association of a single nucleotide polymorphism in the bovine leptin gene with feed intake, growth, feed efficiency, feeding behavior and carcass merit. *Can. J. Anim. Sci.*, 84. 211-219.
- Nkrumah, J. D. – Li, C. – Yu, J. – Hansen, C. – Keisler, D. H. – Moore, S. S. (2005): Polymorphism in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior and measures of carcass merit. *J. Anim. Sci.*, 83. 20-28.
- Radácsi, A. – Béri, B. – Bodó, I. (2008): Szarvszínű-változatok a magyar szürke szarvasmarha fajtában. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 57. 291-303.
- Sedykh, T. – Gizatullin, R. – Dolmatova, I. – Kalashnikova, L. A. (2016): Effects of Polymorphism in TG5 and LEP Genes on meat productivity of Hereford and Limousin bull calves. *Russian Agric. Sci.* 42. 361-366.
- Segura, V. – Vihjalmsson, B. J. – Platt, A. – Korte, A. – Seren, Ü. – Long, Q. – Nordborg, M. (2012): An efficient multi-locus mixed model approach for genome-wide association studies in structured populations. *Nat. Gen.*, 44. 825-830.
- Stone, R. T. – Kappes, S. M. – Beattie, C. W. (1996): The bovine homologue of the obese gene maps to chromosome 4. *Mamm. Genome*, 7. 399-400.
- Szücs, M. (2020): A hazai limousin húsmarhaállomány genetikai elemzése. PhD értekezés, Széchenyi István Egyetem, Mosonmagyaróvár.
- Thaller, G. – Kühn, C. – Winter, A. – Ewald, G. – Bellmann, O. – Wegner, J. – Zühlke, H. – Fries, R. (2003): DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim. Genet.*, 34. 354-357.
- Thompson, J. M. (2004): The effect of marbling on flavour and juiciness scores of cooked beef, after adjusting to a constant tenderness. *Aust. J. Exp. Agric.*, 44. 645-52.
- Winter, A. – Kramer, W. – Werner, F. – Kollers, S. – Kata, S. – Durstewitz, G. – Buitkamp, J. – Womack, J. – Thaller, G. – Fries, R. (2002): Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-Co A: diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 99. 9300-9305.
- Zsolnai, A. – Kovács, A. – Kaltenecker, E. – Anton, I. (2021): Identification of markers associated with estimated breeding value and horn colour in Hungarian Grey cattle. *Anim. Biosci.*, 34. 482-488.

Érkezett: 2021. augusztus

Szerzők címe: Anton I. – Zsolnai A.
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állattenyésztési tudományok Intézet,
Állatnemesítési Tanszék

Authors' address: Hungarian University of Agriculture and Life Sciences
Institute of Animal Sciences, Department for Animal Breeding
H-2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.
anton.istvan@uni-mate.hu