

Genetiske sammenhenger mellom rånesmak og reproduksjonsegenskaper

ELI GRINDFLEK, MAREN MOE OG TORUNN AASMUNDSTAD
Norsvin

Innledning

Produksjon av ukastrert hanngris er gunstig for kjøttproduksjonen siden fôrutnyttelse og slaktekvalitet er bedre for hanngris enn for kastrater. Ukastrert hanngris gir imidlertid en uønsket lukt og smak på kjøttet, kalt rånesmak, noe som gjør dem dårlig egnet til kjøttproduksjon. Rånesmak er hovedsakelig forårsaket av de kjemiske komponentene androstenon og skatol, og av disse er det androstenon som relativt sett har de høyeste nivåene i norske svinepopulasjoner. Androstenon syntetiseres i den samme biokjemiske reaksjonsvei som testosteron samt andre androgener og østrogener. Dette gir en stor utfordring i forhold til seleksjon for redusert rånesmak i avlsarbeidet uten at reproduksjonen påvirkes i negativ retning. For å identifisere genetiske faktorer som er involvert i utviklingen og reguleringen av rånesmak utnytter vi det som allerede er kjent innen syntese og metabolisme av rånesmaksparmetre, ser på sammenhenger og arvbaheter på disse og andre egenskaper, og benytter oss av metoder innen molekylærgenetikk for å identifisere genetiske interaksjoner. Deteksjon av genetiske faktorer som påvirker rånesmak kan inkluderes i praktisk avl for å produsere slaktegris med lav eller ingen rånesmak. Før vi starter opp avl mot rånesmak er det viktig å vite om andre korrelerte egenskaper vil påvirkes av seleksjonen.

For å finne genetiske faktorer som påvirker de ulike egenskapene har vi valgt å benytte oss av ulike angrepsvinkler i prosjektet som helhet. Vi tar i bruk kvantitative statistiske metoder der all informasjon om dyret på fenotypnivå er inkludert, og ser på korrelasjoner mellom egenskaper og arvbaheter mm. Ved hjelp av molekylærgenetiske metoder detekterer vi i tillegg QTLer ("Quantitative Trait Loci"), studerer kandidatgener direkte (gener som vi ut fra biokjemisk og fysiologisk kunnskap kan tro er involvert i utvikling av rånesmak), og detekterer nye gener involvert i rånesmak vha. genespresjonsanalyser (finne om gener uttrykkes ulikt i forhold til ulike nivå av rånesmaksparmetre mm).

Materiale og metode

Dyremateriale

Landsvin og Duroc fra NORSVIN sine råneteststasjoner ble benyttet for å studere genetiske årsaker til rånesmak. De dyrene som ikke går videre til seminråner slaktes ved ca. 100 kg og blodprøver ble tatt to uker før dette. Prøver fra fett, lever

og testikkel ble tatt på slaktelinja og lagret for senere bruk. Lengden på bulbouretralkjertelen (GBU) ble målt på slaktelinja. Denne er tatt med fordi steroider syntetisert i testikkel, som androgener og østrogener, er ansvarlig for utvikling av GBU som er en kjønnskjertel forbundet med rånens kjønnsorganer. GBU er derfor ofte brukt som en indikator på kjønnsutviklingen hos råner (Sellier m.fl. 2000). Analyse av androstenon i fett og plasma, og skatol og indol i fett ble analysert på hormonlaboratoriet ved Norges Veterinærhøgskole. Analyse av testosteron, østronsulfat og 17 β -østradiol ble analysert ved hormonlaboratoriet ved Aker universitetssykehus.

Statistiske metoder

Alle data i dette materialet ble log-transformert siden fordelingen ikke alltid er normalfordelt, og den lineære modellen som ble benyttet forutsetter dette. Varianskomponenter ble estimert med DMU pakken, versjon 6 (Madsen & Jensen 2005). Følgende modell ble brukt for den endelige analysen av alle fenotyper:

$$b_y = \text{far} + \text{besetning-år-sesong} + \text{dager i ventestasjon} + \text{binge} + \text{råne} + \text{prøvedato} + \text{alder ved 25kg} + \text{dager fra 25-100 kg} + \text{levendefødte i rånens kull} + \text{feil}$$

der y er den log-transformerte fenotypen. Den samme modellen ble brukt ved analyse av kandidatgener, der de genetiske variantene av genet (eller en kombinasjon av disse) i tillegg ble tatt med i modellen som en tilfeldig effekt.

Resultater og diskusjon

Sammenhengene mellom rånemakskomponenter og kjønnsrelaterte egenskaper er i dette studiet presentert ved å se på den totale genetiske sammensetningen i populasjonene med hensyn på hver enkelt egenskap, og ved å se på effekten av variasjonen i enkelte gener med hensyn på de ulike egenskapene.

Genetiske korrelasjoner og arvbarheter

De genetiske parametrene for rånemakskomponenter og reproduksjonsparametre er presentert i tabell 1 og 2. Arvbarhetene for alle de studerte egenskapene er middels til svært høye i begge raser og bruk av tradisjonell avl vil med dette være mulig for å redusere rånemak. En fordelaktig korrelasjon mellom androstenon, både i plasma og fett, og skatol og indol gjør dessuten denne jobben er enklere. Mellom rånemakskomponentene og de studerte egenskapene relatert til reproduksjon og produksjon er det imidlertid i alle tilfeller uønskede sammenhenger, noe som kompliserer bruk av tradisjonell avl. En seleksjon for redusert rånemak vil med dette føre til redusert kjønnsmodning hos råner, samt redusert nivå av testosteron med dertil redusert tilvekst og kjøtt%. En korrekt vektning av egenskapene i forhold til dette er derfor av absolutt nødvendighet, og en rekke egenskaper må registreres for å kontrollere utvikling.

Tabell 1. Landsvin: Arvbarheter diagonalt og genetiske korrelasjoner på nedre diagonal

Egenskap	Andr,p	Andro,f	Skatol	Indol	Testost	Østrons	Østrad.
Andro,pl	0.47						
Andro,fett	0.98	0.49					
Skatol	0.44	0.32	0.41				
Indol	0.57	0.50	0.78	0.34			
Testost.	0.93	0.95	0.42	0.66	0.07		
Østronsulf	0.89	0.91	0.33	0.51	0.93	0.50	
Østradiol	0.88	0.90	0.11	0.26	0.80	0.85	0.52

Tabell 2. Duroc: Arvbarheter diagonalt og genetiske korrelasjoner på nedre diagonal

Egenskap	Andr, p	Andro,f	Skatol	Indol	Testost	Østrons	Østrad.
Andro,pl	0.56						
Andro,fett	0.91	0.67					
Skatol	0.44	0.33	0.37				
Indol	0.38	0.32)	0.71	0.27			
Testost.	0.90	0.80	0.60	0.46	0.32		
Østronsulf	0.89	0.83	0.58	0.53	0.83	0.64	
Østradiol	0.92	0.83	0.35	0.34	0.93	0.83	0.65

Effekt av kandidatgener

Som vi ser av resultatene ovenfor er det svært høye uønskede korrelasjoner mellom rånesmakskomponenter og andre kjønns- og produksjonsrelaterte komponenter som testosteron og østrogen. Derfor er det behov for å finne genetiske variasjoner direkte på arvematerialet, ofte representert med enkeltmutasjoner på gennivå (SNP), som påvirker androstenon og/eller skatol uten å påvirke de andre faktorene som vi ønsker å holde stabile eller forbedre. Vi har tidligere identifisert mange kandidatgener for rånesmak i landsvin og duroc (Moe m.fl. 2007; 2008). Ved resekvensering av flere av disse genene fant vi SNPer i både kodende og ikke-kodende deler av genene som vi genotypet til bruk i assosiasjonsstudiet. I en første analyse på et redusert dyremateriale ble mutasjoner i nesten 300 gener testet. Det ble identifisert 135 SNPer i 57 kandidatgener som viste seg å ha en effekt på androstenon, skatol og/eller indol. Deretter ble disse SNPene genotypet i 2800 duroc- og landsvinråner, og der det var flere ble de også analysert i kombinasjon (haplotype). Resultatene viser at mange av SNPene har en samtidig effekt på rånesmakskomponenter og reproduksjonsrelaterte komponenter, men noen viser seg også kun å påvirke androstenon, skatol og/eller indol uten samtidig å påvirke de andre komponentene.

SNPer i gener som koder for medlemmer av cytochrom P450 familien som CYP2E1, CYP21, CYP2D6 and CYP2C49, samt kjerne reseptoren NGFIB og catenin delta CTNND1, påvirker alle rånesmakskomponentene uten samtidig å påvirke de andre fenotypene ($p < 0.001$) (Moe m.fl. subm). Dette er gener som er involvert i både syntese av androstenon, nedbrytning av alle de tre

rånesmakskomponentene og regulatoriske faktorer. Disse SNPene forklarer hver for seg alt fra 2.5 % til hele 16.3 % av den genetiske variasjonen for ulike rånesmaksegenskaper. SNPer i CYP2E1 er signifikante for nivå av skatol og indol i både landsvin og duroc, noe som tyder på at vi kan ha funnet en funksjonell mutasjon som påvirker nivå av rånesmak. Vi identifiserte en haplotype som inneholdt de fordelaktige variantene av alle SNPene i genet, og denne haplotypen hadde ingen signifikant innvirkning på de testede kjønns- og produksjonsrelaterte komponentene.

Konklusjon

Den største utfordringen i forhold til avl for redusert nivå av rånesmak i grisepopulasjoner er den høye genetiske korrelasjonen mellom rånesmaksegenskapene og andre relaterte egenskaper. Resultatene tilsier at det er mulig å redusere nivå av rånesmak uten samtidig å påvirke nivå av testosteron, østronsulfat, 17 β -østradiol og lengden på bulbouretralkjertelen. Før implementering er det imidlertid viktig å teste SNPene opp mot andre viktige egenskaper i avlsmålet. Med en kombinasjon av all tilgjengelig informasjon på de genetiske faktorene involvert kan vi lage et helhetlig seleksjonsverktøy for å finne råner med best mulig sammensetning av gener.

Referanser

Moe M., Meuwissen THE, Lien S, Bendixen C., Wang X., Conley LN, Berget I, Tajet H, & Grindflek E., 2007. *Gene Expression Profiles in Testis of Pigs with extreme levels of Androstenone*. *BMC Genomics*, Nov 7;8:405

Moe M., Lien S, Bendixen C., Hedegaard J., Hornshøj H., Berget I., Meuwissen T. & Grindflek E., 2008. *Gene expression profiles in liver of pigs with extreme high and low levels of androstenone*. *BMC Veterinary Research* 4:29 (06 Aug 2008).

Moe M., Aasmundstad T., Lien S., Meuwissen T.H.E., Hansen M., Bendixen C., Andresen Ø., & Grindflek E., *Association of boar taint candidate gene polymorphisms with androstenone, skatole and phenotypes related to reproduction (Submitted)*

Sellier P, Le Roy P, Fouilloux MN, Gruand J, & Bonneau M., 2000. *Responses to restricted index selection and genetic parameters for fat androstenone level and sexual maturity status of young boars*. *Livestock Production Science* 63: 265-274.

Madsen P, & Jensen J., 2005. *A User's Guide to DMU*. In *A package for analysing Multivariate mixed models Version 6, release 4.5.2005 DIAS, Foulum, Denmark*.