

Výskum a perspektívy moderných biotechnológií v živočíšnej výrobe

J. Bulla: Research and Perspectives of the Modern Biotechnologies in Animal Husbandry. Život. Prostr., Vol. 37, No. 2, 83 – 85, 2003.

The most important new biotechnologies, currently used in animal husbandry, are dealing with a role of genomes in physiological background of economically important traits in livestock, multiple ovulation and embryo transfer and in vitro embryo production. Cloning by nuclear transfer and transgenesis are still in development and they are mainly applied for experimental purposes with the prospect of a more widespread practical implementation in future. It appears that the introduction of new biotechnologies in animal husbandry should be accompanied by scientifically valid and systematic studies in the favour of animal welfare, conservation of genetic resources, environment interactions and efficiency of processing and marketing of livestock products. This direction enables to enhance the consumer safety concerning the use of livestock-derived food.

Biotechnológie z hľadiska živočíšnej výroby sú orientované na využívanie živých organizmov a ich častí pre vysoko intenzívnu a opakovateľnú výrobu potravín alebo modifikáciu produktov živočíchov na špecifické použitie. Zo širokej škály skúmaných a využívaných biotechnologických postupov a metód intenzifikácie produkčných a reprodukčných funkcií hospodárskych zvierat by sme chceli poukázať na mapovanie genómu a markerovo podporovanú selekciu, mnohopočetnú ovuláciu a prenos embryí, transgenózu, rekombinantné hormóny a imunomodulátory a na zlepšovanie krmiva a efektívnosti výživy hospodárskych zvierat.

Mapovanie genómu a markerovo podporovaná selekcia

V uplynulých rokoch progresívne narastali poznatky o lokalizácii a efektoch špecifických génov, ktoré majú význam z hľadiska kvality produkcie, chorobnosti, resp. ďalších úžitkových charakteristík hospodárskych zvierat. Väčšina vlastností vrátane ekonomicky významných, ako je napr. produkcia mlieka a mäsa, je kódovaná viacerými génmi, preto finálny efekt môže byť rozdielny podľa identity individuálneho špecifického génu. Dôležitá je analýza úžitkovosti u rodičov a po-

tomkov a ich vzájomné vzťahy. Pokroky pri využívaní analýzy DNA na identifikáciu geneticky vynikajúcich jedincov umožňujú ich priamu selekciu. Príkladom je stresový syndróm ošípaných ako jednoduchá dedičná genetická porucha, ktorej výsledkom je úhyn zvierat alebo tvorba nekvalitného mäsa. Tento syndróm je súčasne spojený s vysokým obsahom mäsových častí v jatočnom tele. Analýzy genómu na úrovni DNA umožňujú zavčas presne špecifikovať budúcu predispozíciu k tejto vlastnosti, ktorá je založená na mutácii génu ryanidínového receptora (RYR) a poruche tzv. vápnikového (Ca^{2+}) kanála.

Z hľadiska plodnosti hospodárskych zvierat je napríklad pri ovciach významný i produkčne dôležitý tzv. Booroola gén. Jedince austrálskych merinových oviec, ktoré sú nositeľmi tohto génu, sú charakteristické vysokou úrovňou ovulácie a ich genotyp, ale aj fenotyp, sa vzťahuje k veľkosti vrhu, resp. počtu narodených jahniat. Booroola gén (FecB) je kodominantný k úrovni ovulácie a zvyšuje ovulačný pomer o 150 %. Predstavuje ideálny tzv. kandidátsky gén pre budúcu selekciu oviec.

S plodnosťou ošípaných súvisí gén estrogénového receptora i gén prolaktínového receptora. Oba tieto kandidátske gény determinujú počet prasiatok vo vrhu.

Zaujímavý je aj gén rastového hormónu, považovaný

za kandidátsky pre rastovú schopnosť ošípaných a hovädzieho dobytku. Boli dokázané jeho súvislosti s pôrodnou hmotnosťou prasiat a ukazovateľmi ukladania tuku.

Pribudli významné poznatky o lokusoch (úsekoch chromozómov), ktoré kontrolujú mliekovú úžitkovosť hovädzieho dobytku, najmä z hľadiska kvalitatívneho zloženia hlavných mliečnych bielkovín (alfa-laktoglobulínu a kapa-kazeínu). Na základe mnoholokusovej väzbovej analýzy sa zistilo maximum zhody v 5 rozdielnych chromozomálnych oblastiach. Napr. dva lokusy na chromozóme 1 a 10 sú zodpovedné za vysokú úroveň produkcie mlieka, bielkovín a tuku. Ďalšie na chromozóme 6 a 10 kódujú vysokú mliekovú úžitkovosť, ale nie produkciu tuku, ani bielkovín.

Mnohopočetná ovulácia a prenos embryí

Hormonálna indukcia mnohopočetnej ovulácie a prenos embryí patria k tradične uplatňovaným biotechnológiám, ktoré významne prispeli k intenzifikácii živočíšnej výroby. Majú nezastupiteľný význam pri vyššom využití reprodukčného potenciálu plemenníc v prospech genetického zlepšenia populácie. Napríklad počet teliat vysokoužitkových kráv sa tak zvýšil o 30 – 40 %. Mnohopočetná ovulácia a prenos embryí spolu s metódami kryokonzervácie oocytov a embryí patria k základným postupom zachovania biodiverzity hospodárskych zvierat.

Tieto technológie prinášajú aj určité problémy. Zistilo sa napríklad, že prenos embryí v mnohopočetnej ovulácii v niektorých prípadoch spôsobuje embryonálnu mortalitu, a pretože sa rodia väčšie fetáta, ich pôrod býva komplikovanejší. Darkyniam embryí sa zasa predlžuje doba laktácie (van Wagtenonk-de Leeuw et al., 2000). Hoci zatiaľ nie sú mechanizmy týchto účinkov známe, zistilo sa, že indukcia mnohopočetnej ovulácie môže byť spojená s rôznymi poruchami metabolizmu.

Ďalším spôsobom je oplodnenie oocytov *in vitro*. Tento postup zvyšuje intenzitu reprodukcie oproti klasickému prenosu embryí získaných umelou insemináciou o 45 – 50 %. Metóda je síce technicky náročnejšia, ale má výhodu v zlepšení pohody (welfare) darkýň oocytov.

Transgenóza (prenos génov)

Klasickým príkladom manipulácie na úrovni organizmu je tvorba transgenových jedincov. Ide o prenos cudzej DNA (pripravenej gémovej konštrukcie) do genómu jedinca.

Transgenový organizmus je charakterizovaný tým, že má vo svojom genóme (genetickej výbave) zabudovaný (integrováný) cudzí gén s nasledujúcou expresiou (fenotypovým prejavom) a je schopný prenášať tento gén na potomstvo.

Vo všeobecnosti možno prenos génov živočíchov uskutočniť:

- prenosom do gonád,
- prenosom do ganét,
- prenosom do embrya,
- prenosom do somatickeho tkaniva.

Prenos génov (transgenóza) teda predstavuje stabilný systém inkorporácie génov medzi druhmi a ich prejavenie sa v nasledujúcich generáciách. Hoci existuje mnoho technológií prenosu génov (mikroinjekcie do prvojadra buniek, vírusová transfekcia, využitie spermie ako vektora cudzej genetickej informácie a pod.), úspešnosť transgenózy je stále na úrovni 1,5 – 2 %.

Génové konštrukty, v zásade fragmenty DNA, napr. chemicky syntetizovaná DNA, klonovaná DNA, alebo aj fragmenty chromozómov, sa môžu aplikovať a perspektívne integrovať do hostiteľského genómu v rôznom množstve a frekvencii. Súčasne je tu aj možnosť kontroly využívania výsledného produktu. Detekciu integrácie a expresie cudzorodých génov možno robiť špecifickými metódami na rôznej úrovni. Ich podstatou je izolácia a spracovanie DNA získanej z tkanív a krvi, bez ohľadu na štádium vývoja (embryo) alebo vek zvierat.

Okrem prenosu a využitia špecifických génov rastu, hormónov, mliečnych bielkovín a pod. je zaujímavá a efektívna produkcia farmaceuticky významných látok, napr. faktorov zrážanlivosti krvi VIII. a IX., antikoagulačnej bielkoviny C, tromboplastínu a fibrinogénu. Produkcia týchto látok je významná aj z humánneho hľadiska, pretože umožňujú liečenie chorôb s výrazne nižšími nákladmi.

Potenciálne riziká

Od začiatku génových manipulácií (25 rokov) sa vedie diskusia o ich potenciálnom riziku, či už ide o možné rozšírenie nových patogénov, alebo nežiaducu exploataciu transgenových rastlín a živočíchov. Diskutuje sa o tom, aké je riziko ohrozenia zdravia človeka a iných organizmov alebo ovládnutia určitých biotopov či celých ekosystémov, či by mohli spôsobiť lokálne, príp. aj globálne narušenie rovnováhy. Extrémne katastrofickým scenárom zväčša chýba vedecký základ. Ďalší – *modernisticko-scientistický* – extrém nevidí v transgenových zvieratách nijaký problém, predstavujú len rozšírenie tradičných konvenčných šľachtiteľských metód a postupov. Z doterajších poznatkov vyplývajú aj argumenty na podporu bezrizikovitosti ich využívania:

- pri tvorbe transgenových zvierat sa využívajú prevažne bežné spôsoby rozmnožovania, ktoré nepredstavujú žiadne riziko úniku, alebo je možnosť ich likvidácie; jeden umelo prenesený gén v stotísícovom genóme nemôže spôsobiť závažné zmeny, ktoré by viedli k ohrozeniu,

– z hľadiska kompetície v určitom ekosystéme je transgénový organizmus citlivejší v porovnaní s rovnakým nemodifikovaným konvenčným, preto môže postupne zaniknúť.

Existujú aj ďalšie argumenty na obhajobu nízkej rizikovosti transgenózy alebo génových transformácií, ale, podobne ako tie, ktoré sme uviedli, zatiaľ sú neoverené.

Bezpečnosť transgénových technológií však na vedeckom základe s veľkou istotou nie je možné zodpovedne predpovedať. Zdá sa však, že riziko je malé a málo pravdepodobné. V prípade domestikovaných druhov zvierat je riziko potenciálneho ohrozenia malé až bezvýznamné. Chovateľ ich má pod kontrolou a v prípade úniku ich môže ľahko chytiť. Vo voľnej prírode nemajú šancu na ďalšie prežitie.

Rekombinantné hormóny a imunomodulátory

Prvým biotechnologickým produktom vyvinutým systémom génovej technológie s cieľom intenzifikovať fyziologické funkcie regulácie rastu cicavcov bol *bovinný somatotropín* (BST). Boli dokázané jeho efekty pri stimulácii sekrécie mlieka. Po pravidelnom dennom injekčnom podávaní tohto hormónu sa zvyšovala produkcia mlieka kráv o 10 – 20 % v závislosti od veľkosti dávky. BST nemal negatívne účinky na stráviteľnosť krmív, ani na metabolizmus ošetrovaných zvierat. Ako bielkovinový hormón nemal zásadný vplyv ani na organizmus človeka, ktorý konzumoval vyprodukované mlieko. Dôvodom je skutočnosť, že rozdiel v molekulárnej štruktúre bovinného a ľudského somatotropínu predstavuje približne 30 %. Napriek tomu sa verejnosť, najmä v Európe, zásadne postavila proti jeho využívaniu pri intenzifikácii výroby mlieka. V USA program BST ďalej pokračuje.

Stratégia využívania imunomodulátorov je založená na ich cielenom efekte v regulácii hladiny hormónov a súčasne spätnej väzbe kontrolujúcej hormón alebo jeho receptor. Súčasťou je aj aktívna imunizácia orientovaná na stimuláciu produkcie endogénnych protilátok zvierat vystavených pôsobeniu slabých (nízky) dávok antigénov.

Viaceri autori uvádzajú imunizačný efekt ovariálnych funkcií hospodárskych zvierat proti steroidným hormónom a inhibíciu (feedback hormónu, ktorý kontroluje produkciu rastového hormónu). Obidva systémy – aktívna i pasívna imunizácia – sú významné. Pozoroval sa podstatný vzostup ovulačného pomeru v 40 – 80 %, pričom sa o polovicu znížila frekvencia úhynu mláďat a straty plodov. Využitie imunizácie proti GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone) u oboch pohlaví hovädzieho dobytku a kancov ošípaných spôsobilo výrazné zmeny v správaní pohlavne diferencovaných jedincov v skupinovom chove.

Zistili sa tiež významné efekty imunomodulácie pri

využití modifikácií funkcií endogénnych hormónov na zlepšenie plodnosti, rastu, laktácie a zloženia jatočného tela hospodárskych zvierat. Dosiagnuté výsledky sú variabilné a ich priama aplikácia je limitovaná špecifickými produkčnými systémami.

Zlepšovanie využitia krmív a efektívnosti výživy hospodárskych zvierat

Uskutočnilo sa veľa experimentov súvisiacich s modifikáciou a zlepšovaním trávenia hospodárskych zvierat. Ide o genetické manipulácie s mikroflórou zažívacieho traktu hospodárskych zvierat. Výsledky sú však stále veľmi rozdielne a komplex interakcií plemeno – mikroorganizmus – zviera – krmivo ešte málo preštudovaný.

Využitie biotechnológií v živočíšnej výrobe, najmä využitie rekombinantných technológií pri produkcii hormónov a špecificky účinných látok, transgenóza a klonovanie jedincov, sú limitované ekonomickými faktormi i spoločensko-etickými hľadiskami. Perspektíva je však optimistická a je len otázkou času, kedy sa biotechnológie stanú neproblémovou súčasťou nielen výroby, ale hlavne zdrojom zdravých a efektívne využiteľných produktov.

Literatúra

- Bulla, J., Hetényi, L.: Biologické a etické hranice využívania geneticky modifikovaných organizmov v živočíšnej výrobe. In: Súčasná tendencie tvorby a využívania geneticky modifikovaných organizmov. Zborník č. 26, SAPV, 2002, s. 33 – 37.
- Houdebine, L. M.: The Production of Pharmaceutical Proteins from the Milk of Transgenic Animals. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35, 1995, p. 609 – 617.
- Wall, R. J.: Transgenic Livestock: Progress and Prospects for the Future. *Theriogenology*, 1996, 45, p. 57 – 68.
- Van Wagendonk-de Leeuw, A. M., Mullart, E., de Roos, A. P. W., Merton, J. S., den Daas, J. H. G., Kemp, B., de Ruigh, L.: Effects of Different Reproduction Techniques: AI, MOET or IVP, on Health and Welfare of Bovine Offspring. *Theriogenology*, 1996, 53, p. 575 – 597.
- Wilmot, I., Schnieke, E., McVhir, J., Kind, A. J., Colman, A., Campbell, K. H. S.: Nuclear Transfer in the Production of Transgenic Farm Animals. In: Murray, J. D., Anderson, G. B., Oberbauer, A. M., McGloughlin, M. M. (eds.): *Transgenic Animals in Agriculture*. CAB International, Town, 1999, p. 67 – 78.

Prof. Ing. Jozef Bulla, DrSc., Katedra fyziológie živočíchov Fakulty biotechnológie a potravinárstva Slovenskej poľnohospodárskej univerzity, Trieda A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, Jozef.Bulla@uniag.sk