



УДК 636.4.082:575.113

## ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ *CTSL* ТА *MC4R* В ПОПУЛЯЦІЯХ СВИНЕЙ РІЗНИХ ПОРІД

Лихач В. Я., к. с.-г. н.,

Шебанін П. О., асп.

Миколаївський національний аграрний університет,

Балацький В. М., к. б. н.

Інститут свинарства і АПВ НААН

У статті наведено результати досліджень поліморфізму генів *CTSL* та *MC4R* в популяціях свиней порід дюррок, ландрас та велика біла з двох господарств України – ПАТ «Племзавод «Степной» та ТОВ «Таврійські свині». На основі частот генотипів та алелів оцінено генетичне різноманіття тварин та виявлено відмінності між дослідженими популяціями. Отримані результати забезпечують передумови для подальшого вивчення зв'язку генотипів із господарською цінністю тварин.

Ключові слова: **генетичний поліморфізм, частота алелів, частота генотипів, ген рецептору меланокортину 4, ген катепсину L, свині.**

Розвиток і формування певних ознак відбувається залежно від умов життя особини, але в межах норми реакції її генотипу [4]. Визначення генотипу тварини за локусами кількісних ознак (Quantitative Trait Loci, QTL) дає можливість передбачати її генетичний потенціал та господарську цінність на рівні ДНК ще до народження.

Зокрема, для прогнозування м'ясної продуктивності свиней використовують такі ДНК-маркери: ген катепсину L (*CTSL*), ген рецептора меланокортина 4 (*MC4R*), ген інсуліноподібного фактору росту-2 (*IGF-2*), група генів, що кодують білки, які зв'язують жирні кислоти (*FABP*), ген гіпофізарного транскрипційного фактору-1 (*POU1F1*) та ін.

На сьогодні відомі п'ять типів рецепторів меланокортина – *MC1R*, *MC2R*, *MC3R*, *MC4R*, *MC5R*, які кодуються різними генами і виконують різні функції [3]. Меланокортинові рецептори належать до родини рецепторів, пов'язаних із G-білками, і являють собою трансмембранні білки [1]. Одним із перспективних генів-маркерів відгодівельної і м'ясної продуктивності свиней є ген рецептору меланокортину 4 (*MC4R*) [2].

У цьому гені виявлена мутація, що зумовлює споживання свинями більшої кількості корму (~ 10 %), більш швидкий ріст (6 - 8 %) і більшу масу свині (6 - 10 %). Контроль даної мутації може використовуватися у спрямованій селекції як на зниження, так і на збільшення вмісту жиру [5].

Згідно з дослідженнями, проведеними на свинях породи дюррок [7] та італійської великої білої породи [6, 9], ген катепсину L (*CTSL*) також є геном, що бере участь у формуванні відгодівельних і м'ясних якостей свиней.

Катепсини – (від грецького *kathapsin* (переварити)) родина протеаз, здебільшого внутрішньоклітинних. Більшість катепсинів проявляють активність всередині лізосом, руйнуючи захоплені клітиною молекули. Вони локалізовані в різних тканинах тварин. Значна їх кількість знаходиться в скелетній мускулатурі та бере участь у деградації білків під час «дозрівання м'яса» [9].

Поліморфізм гена катепсину L, за даними італійських дослідників [6, 7, 9],



впливає на товщину шпигу, вміст внутрішньом'язового жиру та на середньодобову прирости живої маси. Разом із тим чеські дослідники не виявили його впливу на м'ясні якості свиней [10, 11].

У зв'язку з вищезазначеним, вивчення впливу даних генів на м'ясну продуктивність свиней різних порід наразі є актуальним завданням, що й визначило напрям наших досліджень.

Метою даного дослідження було встановлення g.143C>T поліморфізму гена *CTSL* та с.1426A>G поліморфізму гена *MC4R* у популяціях свиней порід дюрок, ландрас та велика біла та виявлення генетичного різноманіття популяцій досліджуваних порід.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження виконувалися на поголів'ї свиней порід дюрок, ландрас та велика біла з двох господарств України – ПАТ «Племзавод «Степной» Запорізької області (36 тварин) та ТОВ «Таврійські свині» Херсонської області (16 тварин).

Молекулярно-генетичне тестування проводили в лабораторії генетики Інституту свинарства і АПВ НААН України. ДНК виділяли з щетини з використанням набору «Diatom<sup>TM</sup>DNA Prep 100» («Isogen», Росія, Москва).

ДНК-типсування проводили з використанням технології полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Структура праймерів для ПЛР, умови її проведення, відповідні ферменти рестрикції, ПЛР-ПДРФ паттерни та різні алелі для кожного локусу представлені в табл. 1.

Таблиця 1

**Параметри ПЛР-ампліфікації, ПЛР-ПДРФ паттерни алелів генів**

Ген	Структура праймерів для ПЛР	ПЛР <sup>1</sup>	ПЛР-ПДРФ паттерни різних алелів
<i>CTSL</i>	F: TCACTGCCGTGAAGAATCAG R: GCAGAGCTGTAATGGCAAGA	380/64/2,5	ПЛР-ПДРФ ( <i>TaqI</i> ): алель g.143C, 218 + 162 п. н.; алель g.143T, 380 п. н.
<i>MC4R</i>	F:TACCCTGACCATCTTGATTG R: ATAGCAACAGATGATCTCTTT	220/60/2,5	ПЛР-ПДРФ ( <i>TaqI</i> ): алель с.1426 А 220 п. н.; алель с.1426 G 150 + 70 п. н.

Примітка. <sup>1</sup> – Розмір ПЛР продукту (п. н.)/температура відпалу (°C)/[MgCl<sub>2</sub> (mM)].

Для проведення ПЛР-ПДРФ аналізу використовували набори реагентів для ампліфікації фірми Helicon (Росія, Москва). Рестрикцію ДНК здійснювали з використанням ферментів фірми Fermentas (Литва, Вильнюс) згідно з інструкціями виробника.

Для рестрикційного аналізу використовували ендонуклеазу *TaqI* (Fermentas, Литва, Вильнюс). ПЛР продукти та ДНК фрагменти після рестрикції розділяли у 2 % агарозному гелі. Забарвлення ДНК в гелі проводили у розчині етидію броміда (0,5 мкг/мл).

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням комп'ютерної програми «GenAlEx 6» [8].

**Результати досліджень.** Ген *MC4R* у тварин порід дюрок та велика біла виявився поліморфним, у той час як у тварин породи ландрас йому властивий монорфний стан – *MC4R<sup>GG</sup>* (табл. 2).



Таблиця 2

Частота генотипів та алелів гену *MC4R* у свиней різних порід

Порода	Генотип			Алель	
	<i>MC4R<sup>AA</sup></i>	<i>MC4R<sup>AG</sup></i>	<i>MC4R<sup>GG</sup></i>	<i>MC4R<sup>A</sup></i>	<i>MC4R<sup>G</sup></i>
Дюрок ( <i>n</i> = 17)	0,588	0,235	0,177	0,706	0,294
Велика біла ( <i>n</i> = 20)	0,350	0,500	0,150	0,600	0,400
Ландрас ( <i>n</i> = 15)	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000

Водночас, виявлено певні відмінності щодо частот різних генотипів даного гена у тварин порід дюрок та велика біла. Так, у свиней породи дюрок найбільш розповсюдженим був генотип *MC4R<sup>AA</sup>* (0,588), натомість у тварин великої білої породи переважали носії гетерозиготного генотипу (0,500).

Найвища частота алеля *MC4R<sup>A</sup>* була виявлена у тварин породи дюрок – 0,706.

За розподілом частот генотипів, згідно з результатами аналізу молекулярної мінливості (AMOVA), усі популяції свиней вірогідно відрізнялися одна від одної ( $F_{st} = 0,379$ ,  $p = 0,001$ ).

Тварини великої білої породи характеризуються більш високим генетичним різноманіттям за ефективною кількістю алелів гену *MC4R*, ніж представники інших порід (табл. 3).

Таблиця 3

Оцінка генетичного різноманіття тварин досліджуваних порід за геном *MC4R*

Показник	Порода			У цілому
	дюрок ( <i>n</i> = 17)	велика біла ( <i>n</i> = 20)	ландрас ( <i>n</i> = 15)	
Ефективна кількість алелів	1,710	1,923	1,000	1,554±0,279
Фактична гетерозиготність	0,235	0,500	0,000	0,245±0,144
Очікувана гетерозиготність	0,415	0,480	0,000	0,298±0,150
Індекс фіксації	0,433	-0,042	-	0,196±0,194

Для тварин породи дюрок характерне значне переважання очікуваної гетерозиготності над фактичною – що свідчить про дефіцит гетерозигот у популяції. Про це свідчить і й високе значення індексу фіксації  $F_{is} = 0,433$ . Очевидно, це є результатом впливу тиску штучного відбору на популяцію, а саме проведення селекційно-плеємінної роботи у стаді.

Для тварин породи велика біла значення очікуваної та фактичної гетерозиготності майже однакові з незначним переважанням другої, що обумовлює незначне від'ємне значення індексу фіксації.

Ген *CTSL* у тварин усіх порід є поліморфним. Причому серед тварин порід дюрок та велика біла виявлено носіїв всіх можливих генотипів, в той час як серед свиней породи ландрас не було виявлено особин з генотипом *CTSL<sup>TT</sup>* (табл. 4).



Таблиця 4

Частота генотипів та алелів гена *CTSL* у свиней різних порід

Порода	Генотип			Алель	
	<i>CTSL<sup>CC</sup></i>	<i>CTSL<sup>CT</sup></i>	<i>CTSL<sup>TT</sup></i>	<i>CTSL<sup>C</sup></i>	<i>CTSL<sup>T</sup></i>
Дюрок ( <i>n</i> = 17)	0,177	0,235	0,588	0,294	0,706
Велика біла ( <i>n</i> = 20)	0,350	0,400	0,250	0,550	0,450
Ландрас ( <i>n</i> = 15)	0,867	0,133	0,000	0,933	0,067

До того ж, виявлено певні особливості щодо розподілу частот генотипів даного гена і серед тварин порід дюрок та велика біла. Так, серед свиней породи дюрок було виявлено найбільшу кількість особин – носіїв генотипу *CTSL<sup>TT</sup>*, частота якого, відповідно, була найвищою – 0,588. Натомість, у свиней великої білої породи частота даного генотипу була найнижчою – 0,250.

Як наслідок, частота алеля *CTSL<sup>T</sup>* найвищою була у свиней породи дюрок – 0,706, а найнижчою – у тварин породи ландрас – 0,067.

За результатами генотипування порід за геном *CTSL*, виявлено дефіцит гетерозигот серед тварин порід дюрок та велика біла, про що свідчать високі позитивні значення індексу фіксації (0,433 та 0,192 відповідно) (табл. 5). У той час як для породи ландрас різниця між фактичною та очікуваною гетерозиготністю є несуттєвою.

Таблиця 5

Оцінка генетичного різноманіття тварин досліджуваних порід за геном *CTSL*

Показник	Порода			У цілому
	дюрок ( <i>n</i> = 17)	велика біла ( <i>n</i> = 20)	ландрас ( <i>n</i> = 15)	
Ефективна кількість алелів	1,710	1,980	1,142	1,611±0,247
Фактична гетерозиготність	0,235	0,400	0,133	0,256±0,078
Очікувана гетерозиготність	0,415	0,495	0,124	0,345±0,113
Індекс фіксації	0,433	0,192	-0,071	0,185±0,146

Статистично вірогідних відхилень розподілу частот генотипів обох досліджуваних генів від стану генетичної рівноваги Гарді-Вайнберга не встановлено.

**Висновки:**

1. Свині порід дюрок, велика біла та ландрас відрізняються між собою за частотами генотипів генів *MC4R* та *CTSL*. Так, лише у тварин породи ландрас для гена *MC4R* характерний мономорфний стан – *MC4R<sup>GG</sup>*.

2. Для свиней порід велика біла та дюрок властивий високий рівень інбредованості. Так, популяція тварин породи дюрок має дефіцит гетерозигот за обома дослідженими генами (індекс фіксації в обох випадках – 0,433), а популяція великої білої породи має позитивне значення індексу фіксації за геном *CTSL*.

3. Виявлені особливості генетичної структури досліджених порід свиней є підставою для подальшого з'ясування ступеня асоціації генотипів за генами *MC4R* та *CTSL* з продуктивними ознаками тварин.



### Бібліографічний список

1. Лядский И. К. Связь Asp298Asn полиморфизма гена *MC4R* с толщиной спинного сала у свиней крупной белой породы / И. К. Лядский, А. А. Гетья, К. Ф. Почерняев // Цитология и генетика. – 2011. – № 2. – С. 52–56.
2. Оценка влияния гена *MC4R* на откормочные и мясные качества свиней породы ландрас [Электронный ресурс] / [Н. В. Ширкова, А. В. Радюк, Р. Г. Алиев и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – Режим доступа к ресурсу: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14654>. – Дата последнего доступа: 28.12.15
3. Панков Ю. А. Лептин – новый гормон в эндокринологии / Ю. А. Панков // Успехи физиологических наук. – 2003. – № 2. – С. 3–20.
4. Рибалко В. П. Породы свиней в Україні / В. П. Рибалко, Ю. Ф. Мельник, В. М. Нагаевич. – Х. : Еспада, 2001. – 336 с.
5. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits / [K. Kim, N. Larsen, N. Short and others]. // Mammalian Genome. – 2000. – № 11. – P. 131–135.
6. Association between cathepsin L (*CTSL*) and cathepsin S (*CTSS*) polymorphisms and meat production and carcass traits in Italian Large White pigs / [L. Fontanesi, C. Speroni, L. Buttazzoni and others]. // Meat Science. – 2010. – № 85. – P. 331–338.
7. Association between polymorphisms in cathepsin and cystatin genes with meat production and carcass traits in Italian Duroc pigs: confirmation of the effects of a cathepsin L (*CTSL*) gene marker / [L. Fontanesi, C. Speroni, L. Buttazzoni and others] // Molecular Biology Reports. – 2012. – № 39. – P. 109 – 115.
8. Peakall R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P. Smouse. // Molecular Ecology Resources. – 2006. – № 6. – P. 288 – 295.
9. Single nucleotide polymorphisms in several porcine cathepsin genes are associated with growth, carcass, and production traits in Italian Large White pigs / [V. Russo, L. Fontanesi, E. Scotti and others.]. // Journal of Animal Science. – 2008. – № 86. – P. 3300 – 3314.
10. The effect of gene *CTSL* on the quantitative and qualitative production traits of pork meat / [V. Dvořakova, R. Stupka, M. Šprysl and others]. // Maso International BRNO. – 2011. – № 1. – P. 47 – 50.
11. The effect of missense mutation G.143C>T in the *CTSL* gene on production traits without the effect on quality of pork meat / [V. Dvořakova, R. Stupka, M. Šprysl and others]. // Research In Pig Breeding. – 2011. – № 5. – P. 18 – 21.

### ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОПУЛЯЦИЙ СВИНЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД ПО ГЕНАМ *CTSL* И *MC4R*

Лихач В. Я., Шебанин П. А., Николаевский национальный аграрный университет

Балацкий В. М., Институт свиноводства и АПВ НААН

В статье приведены результаты исследований генетического разнообразия по генам *CTSL* и *MC4R* популяций свиней пород дюрок, ландрас и крупная белая из двух хозяйств Украины – ПАО «Племзавод «Степной» и ООО «Таврийские свиньи». На основе частот генотипов и аллелей оценено генетическое разнообразие животных и выявлено наличие межпородной разницы между исследованными популяциями. Полученные результаты обеспечивают предпосылки для дальнейшего изучения связи генотипов с хозяйственной ценностью животных.



*Ключевые слова: генетическое полиморфизм, частота аллелей, частота генотипов, ген рецептора меланокортина 4, ген катепсина L, свиньи.*

*GENETIC DIVERSITY OF POPULATIONS OF PIGS OF DIFFERENT BREEDS BY CTSL AND MC4R GENES*

*Lykhach V., Shebanin P., Nikolaev National Agrarian University*

*Balatsky V., Institute of pig breeding and APV NAAS*

*The article presents the results of research on the genetic diversity of MC4R and CTSL genes in populations of pigs of Duroc, Landrace and Large White breeds from two farms in Ukraine - PJSC "Plemzavod "Stepnoj" and LLC "Tavriyskyswinjy". On the basis of the frequencies of genotypes and alleles the genetic diversity of animals was estimated and the presence of interbreed differences between the studied populations was revealed. The results provide a basis for further study on association of genotypes with the economic value of animals.*

*Key words: genetic diversity, polymorphism, allele frequency, the frequency of genotypes, melanocortin receptor, cathepsin, pigs.*

УДК 636. 4. 082 453.5

**ВІДТВОРЮВАЛЬНІ ЯКОСТІ СВИНОМАТОК М'ЯСНОГО НАПРЯМКУ ПРОДУКТИВНОСТІ**

**Мартинюк І. М., к. с.-г. н.**  
Інститут тваринництва НААН

*У статті проаналізовано строк тривалості поросності у свиноматок м'ясного напрямку продуктивності. Визначені результати оцінювання відтворювальних якостей свиноматок породи уельс та українська м'ясна за багатоплідністю та масою гнізда при народженні залежно від: тривалості поросності, віку свиноматок та породного походження. Оцінка тривалості поросності показує, що найбільша кількість свиноматок поросилася на 112 – 114 день, у гнізді яких було від 6 до 15 поросят. Встановлено, що за масою гнізда при народженні, свиноматки породи уельс мали перевагу за цим показником порівняно з українською м'ясною породою.*

**Ключові слова: тривалість поросності, вік свиноматок, багатопліддя, маса гнізда при народженні.**

Рівень відтворювальних якостей свиней значною мірою впливає на ефективність ведення галузі свинарства. Відтворювальна якість свиноматок – технології виробництва племінної та товарної продукції свинарства [1; 2; 3].

Так як, подовженість поросності, поряд із багатоплідністю і живою масою поросят при народженні – визначений показник повноцінності розвитку поросят, відповідно до цього тривалість поросності в певному ступені є показником життєздатності, довговічності, інтенсивності обміну речовин, тобто найбільш загальних властивостей організму, які складаються на ранніх стадіях ембріонального розвитку, і залежно від їх розвитку, визначають майбутню продуктивність тварин.

Тривалість поросності у свиноматок у середньому становить 114 днів, із відхіленням 103 – 122 днів, та за даними багатьох авторів [4; 5] залежить від індивідуальних особливостей свиноматки, породної належності, кількості плодів у матері, сезону року, умов утримання і годівлі, а також віку матері.