

УДК 577.21; 636.082  
© 2014

*Почерняєв К. Ф., кандидат біологічних наук,  
Балацький В. М., кандидат біологічних наук,  
Лядський І. К., науковий співробітник  
Інститут свинарства і АПВ*

## **ЗВ'ЯЗОК G.143C>T ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА CTSL ІЗ ВІДГОДІВЕЛЬНИМИ І М'ЯСНИМИ ЯКОСТЯМИ СВИНЕЙ ВЕЛИКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ УКРАЇНИ**

*Рецензент – кандидат сільськогосподарських наук С. М. Корінний*

*Викладені результати досліджень зв'язку гена *ctsl* із відгодівельними і м'ясними якістьми свиней великої білої породи України. Проаналізовано особливості аделофонду гена *ctsl* у різних популяціях свиней ВБ породи; проведено аналіз частот і розповсюдження різних генотипів; вивчено зв'язок g.143C>T поліморфізму цього гена з товщиною відкладення сала по середині спини та в ділянці 6–7-го ребер, а також із середньодобовими приростами, товщиною найдовшого м'яза спини й виходом м'яса. Визначено силу впливу g.143C>T поліморфізму гена *ctsl* на ці ознаки. Встановлено достовірні відмінності ( $P < 0,05$ ) за деякими з вищезгаданих ознак у свиней із різними генотипами гена *ctsl*. На підставі проведених досліджень зроблені висновки та подані пропозиції виробництву.*

**Ключові слова:** ген, генотип, велика біла порода свиней, відгодівельні та м'ясні якості, катепсин, *ctsl*.

**Постановка проблеми.** У свинарстві генетичний моніторинг спрямовується на визначення популяційних параметрів, розповсюдження шкідливих мутацій та поліморфізмів генів, що відповідають за розвиток продуктивних ознак. Одними з важливих продуктивних ознак є відгодівельні та м'ясні якості, що визначаються взаємодією багатьох факторів зовнішнього та внутрішнього середовищ.

Дослідження поліморфізму генів, що відповідають за названі ознаки у свиней, є, безперечно, актуальним й об'єктивно необхідним завданням сучасної сільськогосподарської генетики.

До перспективних у цьому відношенні генів належить ген катепсина L (*ctsl*), який, згідно з дослідженнями, проведеними на свинях породи дюрк [5] та італійської великої білої породи [4, 6], бере участь у формуванні відгодівельних і м'ясних якостей свиней.

Проте певна породоспецифічність впливу алейних варіантів більшості генів (зокрема й катепсина), пов'язаних із розвитком продуктивних ознак сільськогосподарських тварин, перешкоджає використанню їх у маркерній селекції. Та-

ким чином, дослідження зв'язку з розвитком продуктивних ознак у конкретній породі та популяції є необхідним етапом впровадження маркерної селекції.

У зв'язку з цим визначення наявності або відсутності впливу алейних варіантів g.143C>T гена *ctsl* на формування продуктивних ознак у свиней великої білої породи різних господарств України є наразі актуальним завданням, що й визначило напрям наших досліджень.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми.** Катепсини – родина лізосомних внутріклітинних протеїназ, що відповідають за протеоліз білкових молекул.

Локалізовані в різних тваринних тканинах. Велика кількість знаходиться в скелетній мускулатурі й бере участь у деградації білків під час «дозрівання м'яса» [6]. Поділяються на три підродини: цистеїнові (катепсини В, С, Н, F, L, К, О, S, V, X, W), серинові (катепсини А, G), аспартатні (катепсини D, E) [7]. Деякі з названих речовин впливають на формування продуктивних ознак сільськогосподарських тварин.

Поліморфізм гена катепсина L достовірно асоційований із середньодобовими приростами живої маси, товщиною хребтового сала та вмістом внутрішньом'язового жиру в італійських свиней порід дюрк і велика біла [4–6].

Натомість чеські дослідники, встановивши вплив гена *ctsl* на товщину хребтового сала та середньодобові прирости, не виявили його зв'язку з м'ясними якістьми свиней [2, 3], проаналізувавши такі породи: велика біла, ландрас, гемпшир, п'єтрен, дюрк та різноманітні міжпородні гібриди.

**Мета і завдання досліджень.** Метою даного дослідження було встановлення g.143C>T поліморфізму гена *ctsl* у популяціях свиней великої білої породи України та виявлення зв'язку відгодівельних і м'ясних якостей свиней цієї породи з різними генотипами вказаного гена.

*Завдання:* проаналізувати особливості g.143C>T алелофону гена *ctsl* серед різних популяцій свиней великої білої породи; дослідити розповсюдженість різних генотипів гена *ctsl* за поліморфізмом g.143C>T у популяціях свиней ВБ породи різних господарств України; встановити відмінності товщини хребтового сала у тварин із різними генотипами за цим поліморфізмом гена *ctsl*.

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження виконувалися на поголів'ї свиней великої білої породи з 6 господарств України, а саме: АФ «Оржицька» Полтавської області (64 тварини, УВБ-3), АФ «Україна» Полтавської області (17 тварин, УВБ-3), АФ «Низи» Сумської області (27 тварин, ВБ порода данської селекції), АФ «Родючість» Сумської області (11 тварин, ВБ порода данської селекції) та АФ «Дзержинець» Дніпропетровської області (15 тварин, УВБ-2).

Оцінка тварин проводилася за методикою [1]. Прижиттєві заміри товщини шпигу були проведені за допомогою ультразвукового пристрою PigLog 105 (SFK «Technology», Данія) у двох ділянках: на рівні 6–7-го грудних хребців (на відстані від 10 до 11 см від холки та 2 см лівіше або правіше від остистих відростків); 6 см справа або зліва вбік від середини спини між лопаткою та крижем.

Фактичні дані, отримані в ході виміру, були відкориговані на живу масу 100 кг із використанням попередньо розрахованих коефіцієнтів. Окрім цього тварини порівнювалися за товщиною найдовшого м'яза спини, середньодобовими приростами й виходом м'яса.

Молекулярно-генетичне тестування проводилося в лабораторії генетики Інституту свинарства і АПВ НААН. ДНК виділяли з крові або щетини з використанням іонообмінної смоли «Chelex-100».

Визначення алельних варіантів проводили за допомогою ампліфікації з використанням технології полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та поліморфізму довжин рестриктних фрагментів (ПДРФ) за методикою, описаною Fontanesi L. зі співавторами [4].

Електрофорез проводили у 1,5 % агарозному гелі. Візуалізацію продуктів ампліфікації здійснювали після фарбування гелю за допомогою бромистого етидію та фотодокументацією на транслюмінаторі.

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

Для визначення зв'язку різних генотипів із відгодівельними та м'ясними якостями був ви-

користаний однофакторний дисперсійний аналіз, що вираховувався за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel (версія 2010).

**Результати досліджень.** ПЛР-ПДРФ аналіз гена *ctsl* визначив g.143C>T поліморфізм у свиней великої білої породи, який до того був описаний у породи дюррок та великої білої італійської селекції [4–6].

Алель С характеризується нуклеотидною послідовністю, що в позиції 143 п.н. має сайт пізнавання ендонуклеази Taq I (T↓CGA) і відповідно після рестрикції утворюються фрагменти ДНК розміром 218 та 162 п.н., алель Т – не піддається дії рестриктази завдяки заміні нуклеотида С на нуклеотид Т у позиції 143 п.н.

Завдяки цьому, сайт пізнавання ендонуклеази Taq I (T↓CGA) зникає, й ампліфікований фрагмент ДНК залишається з молекулярною масою 380 пн. Фрагменти ДНК розміром 380, 218, 162 п.н. вказують на гетерозиготність тварин за цим геном. У ході досліджень нами були виявлені генотипи СС та СТ. Аналіз розподілу g.143C>T алелів гена *ctsl* серед досліджених популяцій виявив значну кількісну перевагу алеля С (від 92,9 % до 100 %), який у середньому по вибірці зайняв 96,6 %. Відповідним чином це вплинуло й на розподіл різних генотипів: СС (93,3 %) та СТ (6,7 %).

Подібні результати були отримані й чеськими дослідниками [3], які визначили наступне співвідношення алелів С та Т, як 0,96 до 0,04, що вказує на незначну поширеність алелю Т не тільки в популяціях свиней великої білої породи, але й у ландрас, гемпшир, п'єтрен, дюррок та в різноманітних міжпородних гібридах.

Через такий розподіл алелів поліморфізм, достатній для проведення подальших досліджень, був виявлений тільки в популяції свиней ВБ породи з АФ «Оржицька» Полтавської області у двох вибірках (за 2008 та 2010 роки).

Тому подальше порівняння тварин із різними генотипами гена *ctsl* за деякими ознаками продуктивності було проведено саме серед вказаної популяції (див. табл.).

Дослідження виявили достовірні ( $P < 0,05$ ) відмінності між тваринами з різними генотипами гена *ctsl* за g.143C>T поліморфізмом за такими ознаками продуктивності як середньодобові прирости та вихід м'яса. Також була розрахована сила впливу ( $\Omega^2$ ) гена *ctsl* на вказані ознаки, що становить 18,7 %. Із цих позицій вважаємо за доцільне рекомендувати ген *ctsl* до селекції свиней ВБ породи шляхом включення молекулярно-генетичних даних до селекційних індексів у поєднанні з класичними селекційними методами.

**СІЛЬСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО. ТВАРИННИЦТВО**

*Зв'язок генотипів гена *ctsl* за *g.143C>T* поліморфізмом із відгодівельними та м'ясними якостями свиней великої білої породи*

| Генотип                 | Продуктивна ознака         |                                    |                                     |  |                         |
|-------------------------|----------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------|
|                         | середньодобовий приріст, г | товщина найдовшого м'яза спини, мм | товщина шпику по середині спини, мм | товщина шпику в ділянці 6–7-го ребер, мм | вихід м'яса, %          |
| АФ «Оржицька», 2008 рік |                            |                                    |                                     |  |                         |
| СС                      | 459,79±10,15               | 42,69±1,15                         | 14,78±0,65                          | 20,83±1,08                               | 54,22±0,89              |
| СТ                      | 477,59±24,62               | 43,67±2,19                         | 13,86±1,49                          | 18,35±4,77                               | 54,77±3,10              |
| АФ «Оржицька», 2010 рік |                            |                                    |                                     |  |                         |
| СС                      | 446,49±12,04*              | 38,42±1,69                         | 15,76±0,97                          | 21,18±0,98                               | 53,08±0,98 <sup>a</sup> |
| СТ                      | 517,92±14,37*              | 30,37±2,38                         | 19,91±3,49                          | 25,69±2,77                               | 46,53±3,55 <sup>a</sup> |

Примітка: \*а –  $p < 0,05$ , відповідно, критерій Фішера

**Висновок.** Виявлено достовірні ( $P < 0,05$ ) відмінності між тваринами з різними генотипами за *g.143C>T* поліморфізмом гена *ctsl* за середньодобовими приростами (16 %) та виходом м'яса

(14 %), що вказує на доцільність залучення гена катепсина L до маркерної селекції названих ознак продуктивності у свиней великої білої породи України.

**БІБЛІОГРАФІЯ**

1. Віллке Х. Методика інтегрованої оцінки ремонтного молодняка свиней за власною продуктивністю в умовах господарства / Х. Віллке, А. Гетя, О. Чуб // Сучасні методики досліджень у свинарстві. – Полтава, 2005. – С. 38–40.

2. Dvořakova V. The effect of gene *CTSL* on the quantitative and qualitative production traits of pork meat / V. Dvořakova, R. Stupka, M. Šprysl, J. Čitek, M. Okrouhla, E. Kluzakova, L. Brzobohaty // *Maso International BRNO*. – Vol. 1. – 2011. – P. 47–50.

3. Dvořakova V. 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, J. Čitek, M. Okrouhla, E. Kluzakova, L. Brzobohaty // *Research In Pig Breeding*. – Vol. 5. – 2011. – P. 18–21.

4. Fontanesi L. 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, E. Scotti, L. Nanni Costa, R. Davoli, V. Russo // *Meat Science*. – Vol. 85. – 2010. – P. 331–338.

5. Fontanesi L. Association between polymor-

phisms 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, E. Scotti, S. Dall'Olio, R. Davoli, V. Russo // *Mol. Biol. Rep.* – Vol. 39. – 2012. – P. 109–115.

6. Russo V. 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, F. Beretti, R. Davoli, L. Nanni Costa, R. Virgili, and L. Buttazzoni // *J. Anim. Sci.* – Vol. 86. – 2008. – P. 3300–3314.

7. Turk V. Cysteine cathepsins: From structure, function and regulation to new frontiers / V. Turk, V. Stoka, O. Vasiljeva, M. Renko, T. Sun, B. Turk, D. Turk // *Biochimica et Biophysica Acta*. – Vol. 1824. – 2012. – P. 68–88.

8. Peakall R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P. Smouse // *Mol. Ecol. Notes*. – Vol. 6. – 2006. – P. 288–295.