

УДК 636.4:636.082:575.827

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ГЕНІВ, АСОЦІЙОВАНИХ ІЗ ГОСПОДАРСЬКО-КОРИСНИМИ ОЗНАКАМИ СВИНИ СВІЙСЬКОЇ (*SUS SCROFA*)**

О.М. КОНОВАЛ, С.О. КОСТЕНКО, В.Г. СПИРИДОНОВ,  
С.Д. МЕЛЬНИЧУК

Національний аграрний університет  
Україна, 03041, Київ, вул. Героїв оборони, 15  
www.nauu.kiev.ua

E-mail: oxanakonoval@mail.ru; swetakostenko@mail.ru;  
spurydonov@nauu.kiev.ua; smelnich@nauu.kiev.ua

*Досліджено генетичну структуру свиней великої білої породи в Україні за 10 локусами господарсько корисних ознак методом ПЛР-ПДРФ. Виявлено бажані алелі усіх досліджених генів, асоційованих з високими репродуктивними показниками, показниками швидкого приросту живої маси та резистентністю до колібактеріозів.*

*Ключові слова: ESR, FSHB, MYF4, PRLR, MC4R, CMyc, RYR, FUT1, MUC4, MYOD1, велика біла порода свиней свійських.*

**Вступ.** За статистичними даними, близько 45 % у світі і 70 % в Україні, з усього виробленого м'яса, займає свинина. Висока продуктивність галузі свинарства досягається цілим комплексом заходів серед яких важливим є удосконалення генетичного потенціалу порід. Визначення генотипу тварини за локусами кількісних ознак (Quantitative Trait Loci, QTL) дає можливість передбачати її господарську цінність, генетичний потенціал на рівні ДНК у ранньому віці, і, навіть, ще до народження тварини. Поряд з традиційним методом відбору тварин, селекція за генотипом сприяє швидкому введенню в популяцію свиней бажаних алелей генів з метою підвищення плодючості, продуктивності, стійкості до захворювань і як наслідок, підвищення ефективності виробництва свинини [1–3].

До теперішнього часу популяції свиней в Україні практично не досліджені за генами господарсько цінних ознак. Неналагодженим залишається і сам процес генотипування та генетичного контролю племінних тварин. Найдослідженішими є гени рианодин-рецептора (стресчутливості) та ген естроген-рецептора (плідності).

### Матеріали і методи

ДНК-дослідження проводили у відділі молекулярної діагностики Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК Національного аграрного університету (УЛЯБП АПК, НАУ) та у молекулярно-діагностичній лабораторії в Аграрному університеті імені Менделя в м. Брно (Чехія). Біоптат (кров та волоссяні фолікули) відбирали у свиней породи велика біла, яка складає близько 70 % генофонду свиней в Україні, у таких господарствах: ВАТ “Маки”, ДСПГ “Христинівське” УААН, СП ТОВ “Нива Переяславщини” та ВАТ агрокомбінат “Калита”.

Дослідження, пов’язані з генотипуванням 60 тварин за 9-ма локусами господарсько-цінних ознак (*ESR*, *FSHB*, *MYF4*, *PRLR*, *MC4R*, *CMyc*, *RYR*, *FUT1*, *MUC4*), а саме ПЛР 540 реакцій, підтримані Чеським науковим фондом № 523/03/H076 (Supported by the Czech Science Foundation no. 523/03/H076). Дослідження 123 тварин за геном *ESR*, 105 тварин за геном *MC4R* та 115 тварин за геном *MYOD1* були проведені в УЛЯБП АПК, НАУ.

Геномну ДНК виділяли за допомогою сорбенту діоксиду кремнію у присутності хаотропних агентів. Генотипування проводили методом ПЛР-ПДРФ (полімеразна ланцюгова реакція, полі-

морфізм довжин рестрикційних фрагментів) [3].

### Результати та обговорення

Генотипи свинюматок за генами *ESR* (естроген-рецептор), *PRLR* (пролактин-рецептор) та *FSHB* (фолікуло-стимулюючий гормон  $\beta$ ), впливають на їхню репродуктивну функцію. Так, свинюматки, у генотипі яких присутні домінуючі алелі *D* та *B* генів *ESR* та *PRLR* відповідно, а також алелі *BB* (рецесивні) гена *FSHB*, характеризуються підвищеними репродуктивними показниками [4–7,]. Результати генотипування тварин за генами репродуктивної функції наведено в табл. 1. Бажаний алель *D* гена естроген-рецептора у досліджених тварин зустрічався з частотою 0,29, бажаний алель *A* гена пролактин-рецептору – з частотою 0,57. У досліджених тварин виявлено високу частоту алелю *B* гена фолікуло-стимулюючого гормону  $\beta$ ) (0,77), а частота бажаного генотипу *BB* склала 0,57. Генетичний моніторинг за генами плідності дозволив би вилучити з племінного розведення тварин, що за фенотипом є високопродуктивними, а за генотипом – гетерозиготними носіями небажаних алелей.

Поліморфізм генів *MYF4* (міогенін фактор), *MYOD1* (фактор, що детермі-

**Таблиця 1.** Частоти генотипів і алелей генів, пов’язаних з репродуктивними ознаками у свиней великої білої породи в Україні

Ген	Генотип			Алелі	
	CC (AA)*	CD (AB)*	DD (BB)*	C (A)*	D (B)*
<i>ESR</i>	0,60	0,22	0,18	0,71	0,29
<i>PRLR</i>	AA	AB	BB	A	B
Частота	0,29	0,56	0,15	0,57	0,43
<i>FSHB</i>	AA	AB	BB	A	B
Частота	0,03	0,4	0,57	0,23	0,77

**Примітка:**\* – У літературі алелі естроген-рецептора частіше позначають як A і B.

нує ріст міобластів), *MC4R* (меланокортин-рецептор), *CMус* (протоонкоген, ген міогенезу, адипогенезу, фолікулогенез-фактор) впливає на показники живої маси свиней. Ген *MYF4* контролює формування міофібрил протягом ембріонального розвитку, а *MC4R* – засвоюваність поживних речовин, наявність двох мутантних алелей по кожному гену у свиней позитивно впливає на показники приросту маси свиней [8–10]. Таким чином, свині з генотипом *BB* за геном *MYF4*, та *PP* за геном *MC4R* (гомозиготи за мутантними рецесивними алелями) мають переваги у швидкості набору живої маси. Тварини з генотипом *AA* за геном *MYOD1* ростуть швидше та мають більшу м'язову вагу [10]. Ген *C-MYC* вважається ще одним потенційним генетичним маркером, який впливає на показник приросту маси і на якість м'яса у свиней. Гомозиготні тварини за рецесивною алеллю (*AA*) мають кращі показники приросту маси [11]. Результати генотипування свиней великої білої породи за генами, які впливають на показники приросту живої маси наведено в табл. 2.

Мутантний алель *B* гена *MYF4*, який в гомозиготному стані проявляється як господарсько корисний для швидкого приросту живої маси свиней, зустрі-

чався в популяції свиней великої білої породи з частотою 0,21, а тварини з генотипом *BB* – з частотою 0,05. Добрі носіїв бажаного генотипу за цим геном у племінному ядрі може поліпшити показники продуктивності товарного поголів'я.

Всі досліджені тварини були з бажаним генотипом *AA* за геном *MYOD1*. При дослідженні тварин за геном *M4CR* виявилось, що свині з генотипом *PP* склали 60 %, а частота алеля *P* – 0,8. Таким чином, у популяції свиней великої білої породи тварини з генетично детермінованими швидким набором маси і відкладенням жиру зустрічаються з частотою 0,6. Дослідження за геном *CMус*, який також впливає на показники приросту маси, показали, що частота тварин бажаного генотипу склала 0,68, а бажаного алелю *A* – 0,83.

В результаті генотипування за генами стійкості до колібактеріозів та стрес-стійкості (табл. 3), можна зробити висновок, що популяція великої білої породи в Україні має 0,15 тварин із резистентним генотипом до колібактеріозів за геном *MUC4* та 0,07 тварин із резистентним генотипом за геном *FUT1*. Генотипи *AB* і *BB* за геном *MUC4* – обумовлюють чутливість до колібактеріозів, та само, як і генотипи *AG* та *GG* за геном *FUT1* [12, 13]. Наявність

**Таблиця 2.** Частоти генотипів і алелей генів, пов'язаних з показниками приросту живої маси у свиней великої білої породи в Україні

Ген	Генотип			Алелі	
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
<i>MYF4</i>	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
Частота	0,6	0,35	0,05	0,79	0,21
<i>MYOD1</i>	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
Частота	1	0	0	1	0
<i>M4CR</i>	<i>MM</i>	<i>MP</i>	<i>PP</i>	<i>M</i>	<i>P</i>
Частота	0,1	0,3	0,6	0,2	0,8
<i>CMус</i>	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
Частота	0,68	0,3	0,02	0,83	0,17

**Таблиця 3.** Частоти генотипів і алелей генів, пов'язаних з резистентністю до захворювань та стрес-чутливістю у свиней великої білої породи в Україні

Ген	Генотип			Алелі	
	AA	AG	GG	A	G
<i>FUT1</i>	AA	AG	GG	A	G
Частота	0,07	0,29	0,64	0,22	0,78
<i>MUC4</i>	AA	AB	BB	A	B
Частота	0,15	0,66	0,19	0,48	0,52
<i>RYR</i>	NN	Nn	nn	N	n
Частота	0,95	0,05	0	0,975	0,025

обох алелей AA у генотипі по кожному гену асоційована з резистентністю до колибактеріозів, тому проведення генетичного моніторингу ремонтного молодняка і, особливо, кнурів могло б покращити генетичний потенціал свиней сприяючи швидкому введенню в популяцію тварин стійких до захворювань, спровокованих кишковою паличкою.

В результаті проведених досліджень не виявлено стрес-чутливих тварин (гомозигот за мутантним алелем nn гена *RYR*). Частота небажаного алеля n гена *RYR* в наших дослідженнях становила 0,025. Це було суттєвою проблемою розведення і вивчалось багатьма лабораторіями світу понад 30 років. За даними О.І. Метлицької (2001) мутантний алель цього гена був характерний для свиней м'ясних порід України, і на той час не виявлений в популяціях великої білої породи [14]. Поліморфізму за цим геном у генофонді свиней України, практично не спостерігається, але відсутність генотипування плідників за геном *RYR* може призвести до швидкого поширення небажаного алеля в популяції.

### Висновки

Виявлений високий рівень внутрішньопопуляційного поліморфізму за генами, які пов'язані з кількісними ознаками. Проведена робота дозволила

виявити бажані алелі генів, що кодують господарсько-цінні ознаки, пов'язані з високими репродуктивними показниками, показниками швидкого приросту живої маси та резистентності до кишкових захворювань. У вивчених популяціях породи великої білої в Україні вони знайдені у кількості, достатній для використання у селекційній роботі. Згідно з літературними даними, такий розподіл частот свідчить про досить високий генетичний потенціал популяцій.

Масовий скринінг племінного поголів'я свиней за генами, що впливають на кількісні ознаки, дозволить в короткий термін виявити особин, які перспективні як покращувачі продуктивних якостей, і вибракувати носіїв небажаного спадкового матеріалу.

### Перелік літератури

1. Глазко В.И., Шульга Е.В., Дымань Т.Н., Глазко Г.В. Диагностика стрессчувствительности свиней по RYR1-гену (ДНК-технологии и биоинформатика в решении проблем биотехнологий млекопитающих). – Белая Церковь, 2001. – с. 113–116.
2. Шейко И.П., Епишко Т.И. Генетические методы интенсификации селекционного процесса в свиноводстве: моногр., – Жодино, 2006. – 197 с.
3. Коновал О. М., Костенко С. О., Білек К., Філкукова Ж. Дослідження поліморфізму свиней великої білої породи за ге-

- нами господарсько корисних ознак. // Наукові доповіді НАУ.– 2008. – №1 (9). – <http://www.nbuu.gov.ua/e-Journals/nd/2008-1/08komevt.pdf> 11. – 15 с.
4. Korwin-Kossakowska A., Kamyczek M., Cieslak D., Pierzchala M. Kuryl J. Candidate gene markers for reproductive traits in polish 990 pig line. // J. Anim. Breed. Genet. Berlin 2003. – Vol. 120. – P. 181–191.
  5. Kmieae M., Terman A. Associations between the prolactin receptor gene polymorphism and reproductive traits of boars // J. Appl Genet. – 2006. –Vol. 47, № 2. – P.139–141.
  6. Коновал О. М., Костенко С.О., Спиридонов В.Г., Мельничук С.Д., Григорюк І.П. Генетична структура української популяції свиней породи велика біла за геном естроген-рецептора // Доповіді Національної академії наук України. – 2008 – №3. – С. 149-151.
  7. Костенко С.О, Коновал О. М. Білек К., Філкукова Ж. Залежність репродуктивних якостей свиней великої білої породи від алельних варіантів естроген- і пролактин-рецепторів // Науковий вісник Національного аграрного університету. – 2007. – Вип. 109. – С. 49–56.
  8. Chen et al. Different allele frequencies of MC4R gene variants in Chinese pig Breeds. // Arch. Tierz., Dummerstorf – 2004.– Vol 47, № 5. – P. 463–468.
  9. Kim, K.S. et al. Functional and phylogenetic analyses of a melanocortin- 4 receptor mutation in domestic pigs // Domestic Animal Endocrinology. – 2004. – Vol. 26. – P. 75–86.
  10. te Pas F.W., Soumillion A., Harders F. L., Verburg F. J., van den Bosch T. J., Galesloot P., Meuwissen T.H.E. Influences of Myogenin Genotypes on Birth Weight, Growth Rate, Carcass Weight, Backfat Thickness, and Lean Weight of Pigs //J. Anim. Sci. – 1999. – Vol. 77. – P. 2352–2356.
  11. Cechova M., Micule V. The analysis of carcass in pigs of different genotypes. // Czech. J. Anim. Sci. – 2004. – Vol. 49, № 9. – P. 383–388.
  12. Jorgensen C.B. Characterization Of The Porcine Mucin 4 Locus. Plant & Animal Genomes XV Conference. Swine. January 13-17, 2007. Town & Country Convention Center. San Diego. – 2007. – P. 582.
  13. Joller D. et al. Refined linkage mapping of the Escherichia coli F4ac receptor gene on pig chromosome 13. Proceeding of the 30th International Conference of Animal genetic. – 2006, Brazil. (site [www.cbra.org.br](http://www.cbra.org.br)).
  14. Балацкий В.Н., Метлицкая Е.Н. ДНК-диагностика стресс-синдрома свиней и ассоциация RYRI-генотипов с жизнеспособностью поросят раннего возраста // Цитология и генетика. – 2001.– Т. 35, № 3. – С. 43-49.

Представлено В.С. Коноваловим  
Надійшла 09.07.2008

#### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫМИ ПРИЗНАКАМИ СВИНЬИ ДОМАШНЕЙ (*SUS SCROFA*)

О.М. Коновал, С.О. Костенко,  
В.Г. Спиридонов, С.Д. Мельничук

Национальный аграрный университет  
Украина, 03041, Киев,  
вул. Героев обороны, 15, [www.nauu.kiev.ua](http://www.nauu.kiev.ua)  
e-mail: [oxanakonoval@mail.ru](mailto:oxanakonoval@mail.ru);  
[swetakostenko@mail.ru](mailto:swetakostenko@mail.ru);  
[spirydonov@nauu.kiev.ua](mailto:spirydonov@nauu.kiev.ua);  
[smelnich@nauu.kiev.ua](mailto:smelnich@nauu.kiev.ua)

Исследовали генетическую структуру свиней крупной белой породы в Украине по 10 локусам хозяйственно полезных признаков методом ПЛР-ПДРФ. Выявлено желательные аллели всех исследованных генов, ассоциированных с высокими репродуктивными показателями, показателями быстрого прироста живой массы и резистентностью к колибактериозам.

Ключевые слова: ESR, FSHB, MYF4, PRLR, MC4R, CMyc, RYR, FUT1, MUC4, MYOD1, большая белая порода свиньи домашней

MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS  
OF GENES ASSOCIATED WITH  
ECONOMICALLY USEFUL TRAITS  
IN DOMESTIC PIG (*SUS SCROFA*)

*O.M. Konoval, S.O. Kostenko,  
V.G. Spirydonov, S.D. Melnichuk*

National Agricultural University  
Ukraine, 03041, Kiev, Geroiv oborony street,  
15, www.nauu.kiev.ua  
e-mail: oxanakonoval@mail.ru;  
swetakostenko@mail.ru;

spirydonov@nauu.kiev.ua;  
smelnich@nauu.kiev.ua

The genetic analysis of Large White pigs breed of Ukraine was made by 10 genes of economically important traits by PCR RFLP. It was find out desirable alleles of all researched genes associated with reproductive traits, growth Rate and resistance to colibacteriosis.

*Key words: ESR, FSHB, MYF4, PRLR, MC4R, CMyc, RYR, FUT1, MUC4, MYOD1, Large White pigs*