



УДК 636.4.082:575.827

ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМУ 1849 G>C ГЕНУ МУЦИН 4 ІЗ ГОСПОДАРСЬКО-КОРИСНИМИ ОЗНАКАМИ СВИНЕЙ ВЕЛИКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ

Рудоман Г. С., здобувач,
Балацький В. М., к. б. н.,
Нор В. Ю., к. с.-г. н.,
Вовк В. О., к. с.-г. н.

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

Здійснена оцінка поліморфізму g.1849 G>C гену MUC4, що асоційований із резистентністю тварин до ентеропатогенних штамів бактерії Escherichia coli та із показниками продуктивності, на вибірці свиней великої білої породи методом ПЛР-ПДРФ. Встановлені основні генетико-популяційні параметри стада за обраним локусом. Розподіл частот алелів показав перевагу господарсько бажаного алелю G у даній вибірці. За результатом однофакторного дисперсійного аналізу виявлено вірогідний вплив генотипів гену муцин 4 (g.1849 G>C) на показники середньодобового приросту ($p \leq 0,05$) та вік досягнення живої маси 100 кг ($p \leq 0,05$).

Ключові слова: ген MUC4, свині, велика біла порода, поліморфізм, показники продуктивності.

Селекція на високу продуктивність неможлива без відбору свиней на генетичну стійкість до хвороб, адже високопродуктивні тварини повинні бути вільними від збудників захворювань. Як показує досвід виробництва, найбільший економічний вплив спричиняють не ті тварини, що загинули, а ті, які перехворіли із наступним зниженням продуктивності. При подальшій експлуатації даних тварин, ефективність виробництва свинини в цілому знижується.

Згідно статистичних даних, однією із найбільш розповсюджених інфекційних хвороб в Україні у свинарстві є колібактеріоз [1, 2]. Дане інфекційне захворювання викликається ентеропатогенними штамми бактерії Escherichia coli. Патогенні властивості ешерихій обумовлені наявністю білкових антигенів (у формі ворсинок) на поверхні клітини, що є факторами прикріплення до специфічних рецепторів ентероцитів тонкого відділу кишечника. Внаслідок патогенного впливу токсинів з'являються діарея, набрякові явища у тканинах і органах та інші ознаки захворювання. Падіж поросят від колібактеріозу в перші тижні життя становить 30–70 % [3, 4].

В якості одного із генів, що можуть брати участь у взаємодії ентеропатогенних штамів і специфічних кишкових рецепторів, розглядається MUC4. Ген MUC4 знаходиться у 13 хромосомі (SSC13q41) свиней. В результаті точкової заміни g.1849 G>C в інтроні 7 змінюється структура кодованого геном білку муцину, що зумовлює зміну чутливості слизової оболонки кишечника до патогенної кишкової палички. Алель G та, відповідно, генотип GG визначають стійкість тварин до колібактеріозу, тоді як носії генотипу CC є сприйнятливими до цього захворювання [5, 6]. З іншого боку, згідно літературних даних, встановлено вірогідний позитивний вплив генотипу GG на такі ознаки як багатоплідність свиноматок, кількість поросят, що народилися живими та збереженість поросят при відлученні [7, 8]. Згідно практичного досвіду виробництва, клінічно здорові та резистентні тварини в основному мають вищі показники продуктивності у порівнянні із тва-



ринами, схильними, до різноманітних захворювань, в тому числі і до кишкових інфекцій.

Виходячи з вищенаведених фактів, представляється доцільним провести дослідження поліморфізму гену *MUC4* свиней великої білої породи для оцінки їх потенційної генетичної резистентності до колібактеріозу, і, в перспективі - подальшої розробки селекційних стратегій з використанням даного молекулярно-генетичного маркеру.

Метою роботи було встановлення генетичної структури популяції свиней великої білої породи за геном *MUC4*, визначення можливості проведення маркер-залежної селекції на підвищення генетичної резистентності до колібактеріозу, а також виявлення асоціації окремих генотипів з показниками продуктивності піддослідних тварин.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводилися в стадії свиней великої білої породи (внутрішньопородний тип 1 – УВБ1) ДП ДГ «Степне» Полтавського р-ну Полтавської області (n=96). Для проведення молекулярно-генетичних досліджень від піддослідних тварин були відібрані зразки біоматеріалу (шерсть з волосяними цибулинами). При виділенні геномної ДНК з біоматеріалу була застосована йоннообмінна смола Chelex-100 [9]. Генотипування здійснювали методом ПЛР-ПДРФ згідно методик авторів [5] з власною модифікацією, що стосувалася підбору оптимальної температури відпалу праймерів. Для полімеразної ланцюгової реакції використовували праймери наступної структури:

MUC4 Forward: 5'-GTGCCTTGGGTGAGAGGTTA-3'

MUC4 Reverse: 5'-CACTCTGCCGTTCTCTTTCC -3'

Локус специфічна ампліфікація здійснювалась за стандартною схемою: в 0,5-мл пробірки Eppendorf вносили реакційну суміш (25 мкл) наступного складу: 2,5 мкл універсального 10x PCR буферу, 2,5 мкл 2мМ dNTP, 2мкл 25мМ MgCl₂, 1 мкл прямого F-праймеру (5 мкМ), 1мкл зворотного R-праймеру (5мкМ), 0,1мкл (5 од. акт.) Tag-полімерази, 6,9 мкл деіонізованої води та зразок ДНК свині – до кінцевої концентрації в суміші (реактиви – Fermentas, Литва). На готову ампліфікаційну суміш нашаровували 25 мкл мінеральної олії. Програма ампліфікації: 94⁰С – 5хв.; 35 циклів: 94⁰ С – 40 с, 60⁰С – 40 с, 72⁰С – 60 с; 72⁰С – 5 хв. ПЛР проводили в ампліфікаторі “Терцик-2” (ДНК – Технології, Росія).

Синтезований у результаті ПЛР ДНК-продукт обробляли рестриктазою *XbaI* (Fermentas, Литва), що зумовлювало появу фрагментів рестрикції, які відповідають наступним генотипам гена *MUC4*: GG – 367 п.н., GC – 367, 216, 151п.н., CC – 216, 151 п.н.

Відхилення розподілу генотипів від рівноваги за Гарді-Вайнбергом у досліджених популяціях оцінювалося за використання критерію χ^2 ; частоти алелів, оцінку генних частот, визначення гетерозиготності обраховували за допомогою програми GenAlex 6.0. [10].

Тварини оцінювалися за наступними параметрами: вік досягнення живої маси 100 кг, товщина шпиків, середньодобовий приріст, згідно стандартних методик [11].

Визначення ступеня кореляції окремих генотипів локусу *MUC4* з показниками продуктивності тварин проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу, обчисленого в середовищі Excel 2007 згідно відповідних методик [12].

Показник сили впливу конкретного локусу на кількісну ознаку розраховували за формулою: $D^2 = C_x / C_y$,

де: C_x - факторіальна дисперсія;



S_y - загальна дисперсія [13].

Результати досліджень. Результати генетико-популяційного аналізу вибірки свиней великої білої породи (УВБ-1) представлені в табл.1.

Таблиця 1.

Генетико-популяційна характеристика свиней великої білої породи за геном *MUC4* (g.1849 G>C)

Частоти					χ^2	Ho	He	PIC	Fis
Генотипів (фактична/очікувана)			Алелів						
GG	GC	CC	G	C					
0,23/0,37	0,77/0,48	0,00/0,15	0,609	0,391	39,45***	0,781	0,476	0,36	-0,641

Примітка. **Ho** – фактична гетерозиготність; **He** – очікувана гетерозиготність; χ^2 – відхилення між емпіричними та теоретичними частотами генотипів відносно закону Гарді – Вайнберга; **PIC** (polymorphic information content) – індекс поліморфного інформаційного вмісту локусу; **Fis** – індекс фіксації Райта, *** - $p \leq 0,001$ - за критерієм достовірності Фішера.

Встановлено, що більшість тварин є носіями господарсько корисного алелю G (частота 0,609), тоді як частота алелю C становила 0,391. Аналіз розподілу частот генотипів показав насиченість стада гетерозиготами GC (0,770) з меншою часткою особин-носіїв GG (0,230). Генотип CC серед цієї вибірки тварин не виявлено. Дану ситуацію можна пояснити тим, що тварини з генотипом CC, які є сприйнятливими до кишкових інфекцій, характеризуються більшим відсотком перинатальної смертності, тоді як особини-носії генотипів GG і GC є стійкими і більш життєздатними, що відображається у більшій кількості поросят народжених живими та переважаючої збереженості при відлученні.

Встановлено статистично достовірне відхилення фактичних частот генотипів від теоретично очікуваного за Гарді-Вайнбергом ($\chi^2 = 39,45$, $p \leq 0,001$), Це може свідчити, що у досліджуваній вибірці тварин спостерігається зміщення генетичної рівноваги у напрямку збільшення частоти гетерозиготного генотипу. Даний факт підтверджується значною перевагою частоти фактичної гетерозиготності (0,781) над очікуваною (0,476), і, як результат, суттєво від'ємним значенням індексу фіксації Райта (-0,641).

На основі результатів популяційного аналізу була проведена оцінка інформативності поліморфної системи *MUC4* (g.1849 G>C) методом розрахунку значення PIC (polymorphic information content) в досліджуваній мікропопуляції свиней. Представлена вибірка має показник PIC 0,36, що вказує на високий рівень поліморфізму даного локусу і є сприятливим щодо можливості проведення пошуку зв'язку окремих генотипів зі стійкістю тварин до колібактеріозу та з показниками продуктивності. Показники менше 0,25 і більше 0,75 рівня PIC не є бажаними для здійснення асоціативного аналізу оскільки у вибірках таких популяцій можуть бути відсутні тварини з певними генотипами.

З метою перевірки гіпотези про існування достовірного впливу окремих генотипів локусу *MUC4* (g.1849 G>C) на ряд продуктивних ознак свиней великої білої породи був застосований однофакторний дисперсійний аналіз отриманих експериментальних даних, результати якого представлені в табл. 2.

Встановлена вірогідна асоціація гетерозиготного генотипу (GC) за обраним поліморфізмом гену *MUC4* з такими продуктивними показниками, як вік досягнення живої маси 100 кг ($p \leq 0,01$) та середньодобовий приріст ($p \leq 0,01$). Параметр сили впливу генетичного фактору на досліджувані ознак склав 4,4 % в обох випа-



дах. Виявлені закономірності є цілком очікуваними, у тому аспекті, що чим вищий приріст у тварин, тим, відповідно, є меншим термін їх відгодівлі для досягнення маси 100 кг. Позитивну асоціацію даного генотипу з вищевказаними ознаками продуктивності можна пояснити певним селекційним підходом, який сприяв відбору саме гетерозиготних тварин.

Таблиця 2.

Асоціація генотипів локусу *MUC4* 1849 G>C з продуктивними показниками свиней

Показники продуктивності	<i>MUC4</i>			D ² , %	P-значення
	GG <i>X ± Sx</i>	GC <i>X ± Sx</i>	CC <i>X ± Sx</i>		
Вік досягнення живої маси 100 кг, дн.	205,55 ± 3,68	196,75 ± 2,14*	-	4,4	0,044
Товщина шпику (на рівні X хребця), мм	19,26 ± 0,80	19,22 ± 0,48	-	0,2	0,966
Товщина шпику (на рівні VI-VII хребців), мм	23,42 ± 0,88	24,06 ± 0,59	-	0,3	0,577
Товщина шпику (на крижах), мм	22,67 ± 0,79	21,34 ± 0,61	-	1,4	0,257
Середньодобовий приріст, г.	490,28 ± 8,83	512,54 ± 5,51*	-	4,4	0,045
Селекційний індекс відгодівельн. якостей	101,18 ± 2,10	99,93 ± 1,40	-	0,2	0,650

Примітка. D² – показник сили впливу, P – показник достовірності, ** - $p \leq 0,01$, * - $p \leq 0,05$ - за критерієм достовірності Фішера, - в перерахунку на 100 кг.

Не встановлено статистично достовірної асоціації виявлених генотипів із товщиною шпику на рівні крижів і VI-VII та X хребців та селекційним індексом відгодівельних якостей у дослідженій субпопуляції.

Висновок. За результатами молекулярно-генетичних досліджень показано, що локус *MUC4* (*g.1849 G>C*) характеризується високим ступенем поліморфізму у дослідженій вибірці свиней великої білої породи. Аналіз розподілу частот алелів та генотипів показав насиченість обраної вибірки тварин господарсько бажаним алелем G, що позитивно корелює з показниками продуктивності та резистентністю тварин до колібактеріозу із перевагою особин-носіїв генотипу GC. Виявлений вірогідний зв'язок окремих генотипів гену муцину 4 з такими показниками продуктивності як середньодобовий приріст та вік досягнення живої маси 100 кг, що дозволяє пропонувати обрану маркерну систему для впровадження у систему селекції племінного поголів'я великої білої породи ДП ДГ «Степне».

Бібліографічний список

1. Якубчак О. М. Аналіз епізоотичної ситуації інфекційних хвороб свиней в Україні / О. М. Якубчак, С. В. Обштат, В. М. Муковоз [та ін.] // Вісник Полтав. держ. аграр. акад. – Полтава, 2014. – № 3. – С. 82–85.



2. Васильєва Т. Б. Моніторинг епізоотичної ситуації з колібактеріозу в Україні за період 2004 – 2015 рр. / Т. Б. Васильєва // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького. – Львів, 2016. – Т. 18, № 2 (66). – С. 30–34.
3. Головка А. М. Ешерихіоз (колібактеріоз тварин) / А. М. Головка, В. О. Ушкалов // Ветеринарна медицина України. – 2004. – № 2. – С. 6–9.
4. Тітаренко О. В. Локалізація ентеробактерій роду *Escherichia* в організмі свиней / О. В. Тітаренко // Вісник Полтав. держ. аграр. акад. – Полтава, 2010 – № 2. – С.111–113.
5. United States Patent Application US 2006/0275763 Porcine polymorphisms and methods for detecting them / C. Jorgensen, 2006.
6. Liu Ying. Association between the *MUC4* g.243A>G polymorphism and immune and production traits in Large White pigs / Liu Ying, Xue Mei Yin, Ri Wei Xia [et al] // Turkish J. of Vet. and Animal Sci. – 2015. – № 39. – P.141–146.
7. Лобан, Н. Эффективность использования гена *MUC4* в качестве маркера продуктивных качеств свиней белорусской крупной белой породы / Н. Лобан, Д. Каспирович, А. Чернов // Аграрная экономика. – 2011. – № 6. – С. 57–62.
8. Коновал О. М. Молекулярно-генетичний аналіз генів, асоційованих із господарсько корисними ознаками свині свійської (*Sus Scrofa*) / О. М Коновал, С. О. Костенко, В. Г. Спиридонов, С. Д. Мельничук // Вісник Укр. тов.-ва генетиків і селекціонерів. – 2008. Т. 6, № 2. – С. 240–243.
9. Корінний С. М. Шерсть тварин як зручний об'єкт виділення ДНК для аналізу за допомогою ПЛР / С. М. Корінний, К. Ф. Почерняєв, В. М. Балацький // Ветеринарна технологія. – 2005. – Бюл. № 7. – С. 80–83.
10. Peakall R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research./ R. Peakall, P. E. Smouse // Molecular Ecology Notes. – 2006. – Vol.6. – P. 288–295.
11. Інструкція з бонітування свиней; Інструкція з ведення племінного обліку у свинарстві – К.: ППНВ, 2004. – 64 с.
12. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников / Плохинский Н. А. – М.: Колос, 1969. – 255 с.
13. Лакин Г. Ф. Биометрия / Лакин Г. Ф. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА 1849G>C ГЕНА МУЦИН 4 С ХОЗЯЙСТВЕННО - ПОЛЕЗНЫМИ ПРИЗНАКАМИ СВИНЕЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ

Рудоман Г. С., Балацький В. Н., Нор В. Ю., Вовк В. А., Інститут свиноводства і агропромислового виробництва НААН (Полтава, Україна)

Осуществлена оцeнка полиморфизма g.1849 G>C гена *MUC4*, ассоциированного с резистентностью животных к энтеропатогенным штаммам бактерии *Escherichia coli* и с показателями продуктивности на выборке свиней крупной белой породы методом ПЦР-ПДРФ. Установлены основные генетико-популяционные параметры стада по выбранному локусу. Распределение частот аллелей показал преобладание хозяйственно желаемого аллеля G в данной выборке. По результатам однофакторного дисперсионного анализа обнаружено достоверное влияние генотипов гена муцин 4 (g.1849 G> C) на показатели среднесуточного привеса ($p \leq 0,05$) и возраст достижения живой массы 100 кг ($p \leq 0,05$).

Ключевые слова: ген *MUC4*, свиньи, большая белая порода, полиморфизм, показатели продуктивности.



ASSOCIATION OF 1849G>C POLYMORPHISM OF THE MUCIN 4 GENE WITH ECONOMICALLY IMPORTANT TRAITS IN THE LARGE WHITE PIG BREED.

Rudoman H.S., Balatsky V. M., Nor V. Y., Vovk V. O., Institute of Pig Breeding and Agroindustrial Production of NAAS (Poltava, Ukraine)

Evaluation of the polymorphism g.1849 G>C of the MUC4 genes associated with animal resistance to entero-pathogenic strains of Escherichia coli, and with the productivity in a sample of Large White pig breed using PCR-RFLP method was done. The main genetic-population parameters of the herd at the selected locus were established. The allele frequency distribution showed the predominance of the economically desired allele G in studied sample. Based on the results of a one-way analysis of variance significant effect of the genotypes of the mucin 4 gene (g.1849 G>C) on average daily weight gain ($p \leq 0.05$) and age of reaching live weight of 100 kg ($p \leq 0.05$) were found.

Keywords: gene MUC4, pigs, Large White breed, polymorphism, of productivitytraits.

УДК 636.4.082:575.113:591.151

АСОЦІАЦІЯ 2856С>Т-ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ РЕЦЕПТОРА ЛЕПТИНУ З ВІДГОДІВЕЛЬНИМИ І М'ЯСНИМИ ЯКОСТЯМИ СВИНЕЙ ВЕЛИКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ

Саранцева Н. К., асп.,
Балацький В. М., к. б. н.,
Саєнко А. М., к. с.-г. н.,
Нор В. Ю., к. с.-г. н.,
Вовк В. О., к. с.-г. н.

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

У технології ПЛР-ПДРФ проведений аналіз вибірки свиней великої білої породи української селекції, оцінена алельна варіабельність та характер розподілу генотипів за локусом гену рецептору лептину. За використання однофакторного дисперсійного аналізу встановлений вірогідний вплив генотипів поліморфного сайту LEPR-2856C>T на показник товщини шпику на рівні X хребця ($p \leq 0,05$), товщини шпику на рівні VI-VII хребців ($p \leq 0,01$), середньодобового приросту ($p \leq 0,05$) та селекційним індексом відгодівельних якостей ($p \leq 0,01$), а параметр сили впливу генетичного фактору на досліджувану ознаку склав 6,46 %, 8,87 %, 5,69 % та 8,81 %, відповідно.

Ключові слова: ген рецептору лептину, поліморфізм, товщина шпику, середньодобовий приріст, свині, велика біла порода.

До останнього часу виробництво свинини як у світі, так і певною мірою в Україні, було зосереджено на отриманні тварин з високими показниками м'ясної продуктивності, меншим вмістом жиру в туші і більш пісним м'ясом. Однак, має місце і інша тенденція – зростання попиту на сало і більш жирну свинину, яка відрізняється кращими смаковими якостями, соковитістю, ніжністю.

Одним із способів регулювання вмісту жиру в м'ясі і товщини шпику у свиней, в залежності від конкретних задач виробництва, є селекція тварин, яка поєднує класичні методи з технологією маркер-допоміжної селекції. Особливістю