

УДК 577.21; 636.082.12

Балацький В.М., кандидат біологічних наук
Гришина Л.П., кандидат сільськогосподарських наук
Вознюк Л.І., зоотехнік
Інститут свинарства ім. О.В. Квасницького НААН

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ПРОЛАКТИНА В ПОПУЛЯЦІЯХ СВИНЕЙ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ ТА ЙОГО ЗВ'ЯЗОК З РЕПРОДУКТИВНИМИ ОЗНАКАМИ СВИНОМАТОК ВЕЛИКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ

Наведено результати дослідження Alu I-поліморфізму гена рецептора пролактину в популяціях свиней різних порід, оцінено можливість його використання в якості генетичного маркера репродуктивних ознак у свиноматок великої білої породи.

Постановка проблеми. Багатоплідність свиноматок є важливою селекційною ознакою, покращення якої може забезпечити додатковий прибуток при мінімальних матеріальних витратах. Але методи традиційної селекції, які для цього використовуються, вимагають багато часу і не завжди дають очікувані результати. Причиною є залежний від статі низький рівень успадкування ознаки та широкий розмах її генетичної мінливості при значному впливі факторів годівлі та утримання.

Прогрес у вивченні геному свині дозволив визначити локуси ДНК, що контролюють багатоплідність тварин, типування за якими надає об'єктивну інформацію для їх оцінки та відбору і дозволяє підвищити ефективність селекції у цьому напрямку. До таких локусів належить і ген рецептора пролактину (PRLR – prolactin receptore gene), для якого знайдені асоціації з багатоплідністю та іншими показниками репродуктивних якостей свиноматок, якістю сперми кнурів [1, 2]. PRLR-ген у геномі свині представлений алельними варіантами А і В, причиною виникнення яких є одонуклеотидний поліморфізм (SNP – single nucleotide polymorphism), що детектується рестрикційним аналізом із застосуванням ендонуклеази Alu I [1]. В ряді робіт для різних ліній і порід свиней показано, що алель А корелює з більшою кількістю поросят, які народилися живими [3, 4, 5]. В інших роботах для певних генотипів свиней перевагу алеля А не встановлено, а для породи дюрк і великої білої, навпаки, показано, що свиноматки з алелем В мають перевагу щодо кількості народжених поросят [6, 7]. Тобто, ефекти алелів А і В можуть різнитися залежно від породи або лінії свиней і, навіть між різними популяціями. Тому, використанню гена рецептора пролактину в якості маркера репродуктивних ознак свиноматок та його залученню до програм селекції і розведення тварин, має передувати аналіз його асоціації з цими ознаками в конкретних популяціях. У нашій роботі проведено дослідження поліморфізму локусу гена рецептора пролактину в популяціях свиней різних генотипів та аналіз його асоціації з

репродуктивними ознаками свиноматок великої білої породи - найбільш поширеної серед усіх порід свиней, що розводяться в Україні.

Матеріал і методика досліджень. Для популяційних досліджень були використані препарати ДНК, отримані з крові свиней племпідприємств провідних по великій білій (різні типи) і великій чорній породах, а також зразки ДНК свиней порід мейшан і п'єтрен з банку ДНК лабораторії генетики інституту свинарства ім. О.В. Квасницького НААНУ. Роботу з визначення зв'язку PRLR-генотипів з репродуктивними якостями свиноматок великої білої породи виконували на 100 головах основного поголів'я племзаводу «Бахмутський аграрний союз» Донецької області. Тварини цієї популяції заводського типу української великої білої породи з покращеними м'ясними якостями (УВБ-3). Для всіх свиноматок зафіксовано основні показники репродуктивних ознак за 2, 3 і 4-ому опоросами.

ДНК із зразків крові тварин виділяли за допомогою реагента Chelex 100 [7].

Типування тварин за локусом гена рецептора пролактину проводили методом ПЛР-ПДРФ із застосуванням ендонуклеази *Alu I*. Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) і рестриктивний гідроліз проводили у відповідності з існуючими рекомендаціями [1]. Розміри фрагментів рестрикції оцінювали електорфорезом у 8% акриламідному гелі після забарвлення бромідом етидію [8]. В якості маркера молекулярної маси використовували рBR322 DNA/BsuRI (Fermentas, Литва).

Наявність на електрофореграмі фрагментів ДНК розміром 124, 90, 79, 77, 67 і 20 п.н. відповідало гомозиготному генотипу AA. Фрагменти ДНК розміром 124, 110, 79, 77, 67 свідчили про гомозиготний генотип BB, фрагменти 124, 110, 90, 79, 77, 67 і 20 п.н. – відповідали гетерозиготному генотипу [1].

Статистичну оцінку даних проводили з використанням критеріїв *t* – Стьюдента і χ^2 – Пірсона [9].

Результати досліджень. Розподіл PRLR-алелів і відповідних генотипів для шести порід і типів свиней представлені в таблиці 1.

1. Розподіл PRLR - алелів і генотипів у популяціях свиней різних порід і типів

Породи/типи	Частоти алелів		Частоти генотипів			P
	PRLR A	PRLR B	AA	AB	BB	
Велика біла англійської селекції n = 100	0,14	0,86	0.13 (0,02)	0.02 (0,24)	0.85 (0,74)	>0,999
Велика біла (тип УВБ-1), n = 50	0,06	0,94	0.06 (0,00)	0.00 (0,12)	0.94 (0,88)	>0,95
Велика біла (тип УВБ-3), n = 100	0,34	0,66	0.27 (0,12)	0.13 (0,45)	0.60 (0,43)	>0,999
Велика чорна n = 50	0,34	0,66	0.26 (0,12)	0.16 (0,45)	0.58 (0,43)	>0,999
Мейшан n = 10	0,40	0,60	0.40 (0,16)	0.00 (0,48)	0.60 (0,36)	>0,99
П'єтрен n = 10	0,10	0,90	0.10 (0,01)	0.00 (0,20)	0.90 (0,79)	>0,99

Примітка: в дужках наведено теоретично очікувану частоту генотипів.

P – рівень імовірності за критерієм χ^2 при оцінці відмінності фактичного розподілу генотипів від теоретично очікуваного.

У всіх досліджених популяціях PRLR-локус виявився поліморфним, при цьому частота алеля В була вищою ніж алеля А. Особливо високою частотою алеля В характеризувалися популяції свиней ВБА, УВБ-1 та група свиней породи п'єтрен. Для порівняння у в'єтнамських свиней (Mong Cai pig) - частота алеля А складає 0,19, В – 0,81, у великій білій породі, в породах німецький ландрас і польський ландрас частота алеля В також вища за частоту алеля А [1,2]. В той же час у породі дюрк, великій білій польської селекції алель А перевищував за частотою алель В [6]. Подібне останньому співвідношення частот PRLR-алелів у популяції великої білої породи виявлено і в роботі [7]. Наші результати щодо розподілу алелів і генотипів у породі п'єтрен не співпали з даними Кмієс [2006], згідно яких домінуючим за частотою був алель А. Останнє можна пояснити невеликою вибіркою тварин підданих тестуванню, в нашій роботі і дослідженнях згаданого автора.

Щодо розподілу генотипів, то для всіх досліджуваних популяцій було характерне відхилення від панміктичної рівноваги, розрахованої за формулою Гарді-Вайнберга [10], (табл. 1), спостерігалася нестача гетерозиготних генотипів. Останнє може свідчити про залучення певних PRLR-генотипів у селекційний процес і таке розведення тварин, яке сприяє елімінації гетерозиготних за локусом рецептора пролактину генотипів. В цілому, результати аналізу розподілу PRLR-алелів і генотипів свідчать про потенційну можливість проведення MAS (marker assisted selection – маркер допоміжна селекція) на внутрішньопородній основі з використанням в якості генетичного маркера SNP по гену рецептора пролактину в усіх досліджених породах і типах свиней, за виключенням типу УВБ-1, де частота алеля А виявилася дуже низькою.

З метою визначення асоціації PRLR-генотипів з репродуктивними якостями свиноматок великої білої породи була досліджена популяція свиней УВБ-3. Ця популяція характеризувалася сприятливим для аналізу розподілом контрастних генотипів. На фоні низького числа гетерозиготних тварин виявлена велика кількість свиноматок з гомозиготними генотипами АА і ВВ. За результатами PRLR-типування тварини були розділені на три групи: 1-а – свиноматки з генотипом АА, 2-а – АВ и 3-а – ВВ. Між групами проведено порівняння кількості всіх народжених поросят у розрахунку на одне гніздо і багатоплідність свиноматок. Результати роботи представлені в таблицях 2 і 3.

Як видно із таблиці 2, найбільша кількість новонароджених поросят спостерігалася у свиноматок з ВВ-генотипом за локусом гена рецептора пролактину. За результатами трьох опоросів у середньому ця група переважала тварин з генотипом АА на 1,48 поросяти на гніздо і свиноматок з генотипом АВ – на 0,42 голови. Причому, ця закономірність прослідковувалася в кожному опоросі, а найбільша різниця між групами спостерігалася в 4-му опоросі. Внесок одного В-алеля PRLR – гена у величину даної ознаки у середньому склав від 0,42 до 0,74 поросяти на гніздо.

2. Зв'язок між генотипами свиноматок за PRLR-геном та кількістю новонароджених поросят на гніздо

Групи свиноматок за PRLR-генотипом / Номер опоросу	1 (PRLRA/A) n=27	2 (PRLRA/B) n=13	3 (PRLRB/B) n=60
2	11,85±0,78	11,14±0,94	12,57±0,49
3	12,85±1,07	13,50±2,08	13,86±0,77
4	11,00±0,68**	12,33±1,2	13,72±0,82**
2 – 4 (у середньому на опорос)	11,90	12,32	13,38

** P > 0,99

Щодо багатоплідності (таблиця 3), то перевага свиноматок з генотипом ВВ над тваринами з генотипом АА за даними 2, 3 і 4 опоросів у середньому дорівнювала 1,00 поросяті на гніздо, над гетерозиготними свиноматками –0,68 голови. Внесок одного В-алеля за показником багатоплідності становив 0,50-0,68 поросяті на гніздо. Характерно, що в 4-му опоросі групи з генотипами АВ та ВВ за багатоплідністю не відрізнялися.

3. Зв'язок між генотипами свиноматок за PRLR-геном та їх багатоплідністю

Групи свиноматок за PRLR-генотипом / Номер опоросу	1 (PRLR A/A) n=27	2 (PRLR A/B) n=13	3 (PRLR B/B) n=60
2	11,43±0,41	11,14±0,82	11,73±0,25
3	11,57±0,92	12,00±1,41	12,43±0,67
4	10,10±0,58a	12,00±0,96*	11,94±0,77*
2 – 4 (в середньому на опорос)	11,03	11,71	12,03

* P > 0,95, різниця вірогідна відносно показника позначеного «а».

Отримані дані погоджуються з результатами роботи Лаломової [7] в якій показано, що свиноматки великої білої породи з генотипом ВВ по локусу рецептора пролактину переважають свиноматок з генотипом АА за загальною кількістю всіх народжених і народжених живими поросят на 1,2 і 0,69 голови на гніздо, відповідно.

Таким чином, у популяції свиней великої білої породи (заводський тип УВБ-3) існує певна залежність репродуктивних ознак свиноматок від їх генотипу за геном рецептора пролактину. Однонуклеотидний поліморфізм останнього за сайтом рестрикції ендонуклеази Alu I може використовуватися в даній популяції в якості генетичного маркера в селекції на покращення показника багатоплідності.

Висновки. В породах свиней велика біла англійської селекції, велика біла внутрішньопородних типів УВБ-1 та УВБ-3, велика чорна, мейшан та п'етрен ло-

кус рецептора пролактину є поліморфним. У всіх досліджених популяціях і групах свиней спостерігається відхилення в розподілі PRLR-генотипів від рівноваги розрахованої за формулою Гарді-Вайнберга, що свідчить про залучення PRLR-локусу в селекційний процес. Свиноматки великої білої породи (тип УВВ-3) з генотипом ВВ по гену рецептора пролактину мають кращі показники народжуваності та багатоплідності порівняно із тваринами, що мають генотипи АВ та АА.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Kmieč M. Association between the prolactin receptor gene polymorphism and reproductive traits of boars / Kmieč M., Terman A. // Journal Applied Genetics. – 2006. – 47. – pp. 139-141.
2. Putnová L. A new HpaII PCR-RFLP within the porcine prolactin receptor (PRLR) gene and study of its effect on litter size and number of teats / Putnová L., Knoll A., Dvorak J., Šepica S. // Journal of Anim. Breed. and Genetics. – 2002. – 119. – pp. 57-63.
3. Terman A. Effect of the polymorphism of prolactin receptor (PRLR) and leptin (LEP) genes on litter size in Polish pigs / Terman A. // Journal of Anim. Breed. and Genetics. – 2002. – 119. – pp. 57-63.
4. Nguyen Thi Dieu Thuy, Nguyen Thu Thuy, Nguyen Van Cuong. Genetic polymorphism of prolactin receptor gene in Mong Cai pig // ntdthuy@ibt.ac.vn.
5. Vincent A.L. The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs / Vincent A.L., Evans G., Short T.H., Southwood O.I., Plastow G.S., Tuggle C.R., Rotshchild M.F. // In: Proc., 6th World Congress Genet. Applied Livestock Production. Armidale, Australia. – 1998. – 27. – pp. 15-18.
6. Drogomuller C. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines / Drogomuller C, Hamann H, Dist O. // Journal of Animal Science. – 2001. – 79. – pp. 2565-2570.
7. Лаломова Е.А. Полиморфизм свиней по генам эстрогенового, пролактинового и рианодинового рецепторов: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. наук: спец. 06.02.01 / Лаломова Е.А. – Лесные Поляны Моск. обл., 2007. – С.23.
8. Маниатис Т. Молекулярное клонирование / Маниатис Т., Фрич Э., Сембрук Д. – М.: Мир. – 1984. – 479 с.
9. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников / Плохинский Н.А. – М: Колос, 1969. – 256 с.
10. Глазко В.И. Генетика изоферментов животных и растений / Глазко В.И., Созинов И.А. – К: Урожай, 1993. – 528 с.

Балацкий В.Н., Гришина Л.П., Вознюк Л.И. Полиморфизм гена рецептора пролактина в популяциях свиней разных генотипов и его связь с репродуктивными признаками свиноматок крупной белой породы. *Представлены результаты исследования Ah1 I-полиморфизма гена рецептора пролактина в популяциях свиней разных пород, оценена возможность его использования в качестве генетического маркера репродуктивных признаков у свиноматок крупной белой породы.*

V.M.Balatsky, L.P.Gryshyna, L.I.Vozniyk. Prolactin receptor gene polymorphism in pig populations of different genotypes and its relation to reproductive traits of sows of Large White breed.

The results of study of prolactin receptor gene Alu 1-polymorphism in populations of pigs of different breeds are presented. It is estimated possibility of its using as a genetic marker of reproductive traits in sows of Large White breed.

УДК 577.21; 636.082.12

Саєнко А.М., молодший науковий співробітник

Балацький В.М., кандидат біологічних наук

Дикань О.С., лаборант

Інститут свинарства ім. О.В. Квасницького НААН

ПОЛІМОРФІЗМ ЛОКУСУ ІНСУЛІНОПОДІБНОГО ФАКТОРА РОСТУ 2 У ПОПУЛЯЦІЯХ СВИНЕЙ РІЗНОГО НАПРЯМКУ ПРОДУКТИВНОСТІ

Представлено результати ДНК-типуювання свиней різних порід за геном інсуліноподібного фактора росту 2. Встановлено розподіл алелів і генотипів, рівень гетерозиготності, оцінено можливість проведення маркерної селекції.

Постановка проблеми. Традиційні методи оцінки тварин за фенотипом та генотипом не надають достатньо повної і об'єктивної інформації про генетичний потенціал особин і, до того, ж залежать від дії паратипових факторів. Методи оцінки, що засновані на молекулярно-генетичному аналізі геному здатні точно визначити генетичні особливості тварини, оцінити можливість її використання в селекційно-племінній роботі.

Одним із підходів до аналізу геному є виявлення однонуклеотидного поліморфізму (SNP – single nucleotide polymorphism) в регуляторних, або структурних частинах генів, які відповідають за прояв господарсько-важливих продуктивних ознак і належать до локусів кількісних ознак (QTL – quantitative trait loci). На основі інформації отриманої від такого SNP-маркування по QTL-локусах можна направлено формувати генофонди стад з необхідними генними варіантами.

В Україні, на даний час, проведено лише поодинокі дослідження з SNP-маркування по QTL-локусах, хоча впровадження геномної селекції потребує