В статье представлены результаты статистического анализа исследований динамики изменений показателей активной кислотности (pH) и электропроводности (LF) в длиннейшей мышце спины и полуперепончастом мускуле свиней в первые сутки созревания туш. Установлено, что породные особенности послеубойных процессов в тушах свиней мясного направления продуктивности не имели выраженного проявления. Показатель електропроводности имеет более поздние сроки стабилизации, чем активная кислотность (pH), которая через 24 часа после забоя свиней становится достоверным критерием оценки качества мышц динамического типа. Обосновано вывод о возможности использования полуперепончастого мускула в качестве морфофункционального аналога длиннейшей мышцы спини для контроля скорости созревания туш свиней.
Ключевые слова: свиньи, туши, автолиз, процесс созревания, мышцы, длиннейшая мышца спини , полуперепончастая мышца.

I.B. Bankovska. The description of the process of muscles' maturation of a dynamic type in pigs' carcasses.
It is given the results of astatistical analysis of studies of dynamic changes in indexes of active acidity (pH) and electrical conductivity (LF) in the longest dorsi muscle and half membrane muscle in the first days of carcasses' maturation. It has been determined that the breed peculiarities of postmortem processes in pig carcasses meat productivity were without a clear manifestation. Index of conductivity has later terms of a stabilization than active acidity (pH which 24 hours after slaughter of pigs is likely criterion for evaluating the quality of muscle of a dynamic type. The conclusion about the use of half membrane muscle as morphofunctional analogue longest dorsi muscles to control speed of a maturation of pigs' carcasses.
Key words: pigs, carcasses, autolysis, maturation, muscle, muscle longest dorsi, half membrane muscle.

УДК 577.21; 636.082.12

Буслик Т.В., Балацький В.М., кандидати біологічних наук
Корінний С.М., кандидат сільськогосподарських наук
Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА КАТЕПСИНУ L У РІЗНИХ ПОПУЛЯЦІЯХ СВИНЕЙ

Рецензент – кандидат біологічних наук П.В. Денисюк.

Представлено результати ПЛР-ПДРФ типування за поліморфізмом G149R гену катепсину L одного внутріпородного типу 1 (УВБ-1) великої білої породи та восьми різних порід свиней, що розводяться в Україні: велика чорна, велика біла англійської селекції, українська степова біла, українська степова ряба, полтавська м'ясна, українська м'ясна, миргородська та червонобілопояса. Обґрунтовано можливість проведення маркерної селекції на підвищення економічно важливих показників у свиней всіх досліджуваних порід, крім миргородської породи.

Ключові слова: поліморфізм гена катексину, популяції свиней, маркерна селекція.

Постановка проблеми. За останнє десятиліття ДНК-типування свиней за локусами генів, що контролюють господарсько-корисні ознаки, набуло широкого значення у селекційній роботі в тваринництві загалом та у свинарстві зокрема [1-4]. В Україні на даний період лише починається використання ДНК-маркерів при відборі тварин з покращеними господарсько-корисними ознаками. Але для того щоб започаткувати маркерну селекцію в Україні потрібно проводити популяційний аналіз свиней за локусами кількісних ознак (QTL-локусами, англ. quantitative trait loci). Популяційний аналіз за низкою генів, які вже давно використовуються зарубіжними вченими в селекції свиней, був здійснений і вітчизняними дослідниками [1, 3, 4]. Ген катепсину L (CTSL) заслуговує на увагу генетиків. Адже поліморфізм цього гену відіграє суттєву роль у детермінації економічно важливих ознак свиней: середньодобового приросту ваги, відсотка пісного м'яса та товщини хребтового сала у свиней [10].

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. Катепсини відносяться до лізосомальних цистеїнових протеїназ з широким спектром функцій, які локалізовні майже в усіх тканинах і клітинах організму тварини. Вони беруть участь у внутрішньоклітинному катаболізмі білка [7, 14, 15]. Серед лізосомальних цистеїнових протеїназ катепсин L є найбільш активним у деградації протеїнових субстратів, таких як колаген, еластин і азокозеїн [14]. На додаток до своєї основної ролі в процесі нормального білкового обміну вони володіють високою специфічністю протеолітичної активності, у тому числі в обробці антигену імунної відповіді, обробці прогормонів, опосередковано беруть участь в обробці головного комплексу гістосумісності II і впливають на розвиток ожиріння та прогресування пухлин [7, 14, 15].

У мишей з дефектним геном катепсину L (мутація гену CTSL, SNP - *G149R*) розвивається порушення епідермального гомеостазу, що призводять до випадання волосся, гіперплазії епідерміса, акантозу та гіперкеритозу [11].

У свиней участь катепсинів у протеолітичних реакціях характеризується суттєвим впливом на процеси дозрівання м'яса, у зв'язку з їх дією на структуру м'яса й органолептичні показники. Їх вклад є основоположним у формуванні смаку в'яленої шинки [6]. Висока активність катепсину L в матковій порожнині свиноматки в період прикріплення плаценти та висока ефективність під час деградації колагена IV, еластина, ламініна та фібронектина привела до припущення, що CTSL може відігравати важливу роль у процесі ембріональної імплантації [13]. Німецькими дослідниками клоновано ген CTSL свині і визначено повну його послідовність, яка охоплює близько 5,6 кб і складається з восьми екзонів. Він кодує основний пептид з 334 амінокислот. На основі флуоресцентної гібридизації та радіаційно гібридних карт визначено розміщення гену CTSL свині на хромосомі SSC10q11→q12 [12].

У гені катепсину L свиней у 5 екзоні в позиції 143 виявлено однонуклеотидну заміну цитозину на тимін (SNP EMBL FN556187, g. 143C>T) [9].

За літературними даними поліморфізм гену CTSL g. 143C>T призводить до позитивного ефекту на показники середньодобового приросту, виходу пісного м'яса та товщини хребтового сала у свиней породи дюрок та велика біла італійської селекції [8, 9, 10].

Таким чином, дослідження генетичної мінливості CTSL може бути корисним для виявлення ДНК-маркерів, пов'язаних з параметами якості м'яса та м'ясними якостями свиней.

Мета досліджень та методика їх проведень. Метою даної роботи було провести популяційний аналіз за геном катепсину L різних порід свиней, що використовуються у вітчизняній селекції та оцінити можливість маркерної селекції за поліморфізмом гену CTSL. Зразки біоматеріалу (кров і щетина) в кількості 291 шт. були взяті з банку ДНК лабораторії генетики Інституту свинарства і АПВ НААН, які були отримані від тварин

з провідних за породами племінних підприємств України за період з 2005 по 2012 р.р.: ТОВ «Маяк», Полтавської обл. (2009 р.) – велика чорна (ВЧ) порода, «ДПДГ» «Степне», Полтавської обл. (2008 р.) – велика біла порода внутріпородний тип 1 (УВБ 1), ПГ «Степной», Запорізької обл. (2007 р.) – велика біла порода свиней англійської селекції (ВБА), племзавод «Асканія-Нова», Херсонська обл. (2005 р.) – українська степова біла порода (УСБ) та українська степова ряба порода (УСР), к/з «Стрілецький», Луганська обл. (2005 р.) – полтавська м'ясна порода (ПМ), к/з «Деркульський», Луганська обл. – українська м'ясна порода (УМ), п/з «Декабристи», Полтавська обл. (2008 р.) – миргородська порода (М), п/з «Україна», Полтавська обл. – червонобілопояса порода (ЧБП).

Виділення ДНК проводили сольовим методом [5] або за допомогою іонообмінної смоли Chelex 100 [16]. Для ДНК-типування використовували метод ПЛР-ПДРФ. ПЛР проводили з використанням стандартної реакційної суміші для ампліфікації «Тапотили» (ГосНИИ генетики микроорганизмов, Росія) в ампліфікаторі «ТЕРЦИК-2» (ДНК-технология, Росія) за програмою: 95 ^{0}C – 5 хв; 35 циклів: 95 ^{0}C – 30 с, 64 ^{0}C – 30 с, 72 ^{0}C – 30 с; 72 ^{0}C – 5 хв.

Для ампліфікації використали олігонуклеотидні праймери наступного дизайну [6]:

CTSL – Forward: 5'-TCACTGCCGTGAAGAATCAG-3'

CTSL – Reverse: 5'-GCAGAGCTGTAATGGCAAGA-3'

У результаті ПЛР синтезується фрагмент CTSL-гена розміром 380 п.н., який гідролізували ендонуклеазою рестрикції Taq 1 в умовах, рекомендованих фірмою виробником (Fermentas, Литва). Аналіз рестриктних фрагментів здійснювали за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі.

Візуалізацію проводили шляхом фарбування агарозного гелю бромистим етидієм з подальшим переглядом в ультрафіолетовому світлі на трансілюмінаторі. Фотодокументацію здійснювали цифровим фотоапаратом Canon. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми GenAlexs 6.0.

Результати досліджень У результаті рестрикції отримали фрагменти ДНК, які відповідають певним генотипам тварин: 380 п.н. – гомозигота за алелем g. 143T (генотип TT), 162п.н.+218 п.н. – гомозигота за алелем g. 143C (генотип CC), 380 п.н.+162п.н.+218 п.н. – гетерозигота генотип CT (див. рис.).

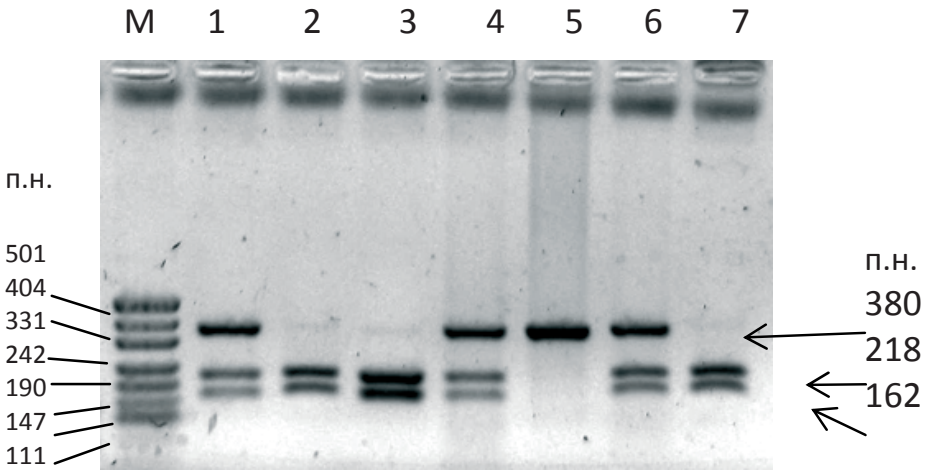

Рис. Електрофорез у 2 % агарозному гелі продуктів TagI рестрикції фрагменту локусу CTSL ампліфікованих у ПЛР (М-маркер молекулярної маси, pUC19/ MspI,2-4 ДНК свиней: 2, 3, 7 – генотип CC, 1, 4, 6 – генотип CT, 5 – генотип TT).

Розподіл CTSL-алелів і відповідних генотипів для дев'яти порід і типів свиней представлені в таблиці.

Розподіл CTSL-алелів і відповідних генотипів у популяціях свиней різних порід і типів

Породи свиней	Кількість тварин, шт.	Частоти алелів		Частоти генотипів			Гетеро-зиготність		Індекс фіксації
		C	T	CC	CT	TT	H_o	H_e	
УСБ	10	0,850	0,150	0,700	0,300	0,000	0,300	0,255	-0,176
УСР	29	0,672	0,328	0,448	0,448	0,103	0,448	0,441	-0,018
ПМ	20	0,875#	0,125	0,750	0,250	0,000	0,250	0,219	-0,143
УМ	17	0,882#	0,118	0,765	0,235	0,000	0,235	0,208	-0,133
ЧБП	20	0,500	0,500	0,200	0,600	0,200	0,600	0,500	-0,200
М	49	0,990***,###	0,010	0,980	0,020	0,000	0,020	0,020	-0,010
УВБ-1	50	0,930**,###	0,070	0,860	0,140	0,000	0,140	0,130	-0,075
ВБА	50	0,890**,##	0,110	0,780	0,220	0,000	0,200	0,169	-0,124
ВЧ	46	0,859*,##	0,141	0,739	0,239	0,022	0,239	0,243	-0,015

*Примітка: ***- p < 0,001, ** - p < 0,01, * p < 0,05 достовірність різниці між показниками породи УСР та показниками інших порід. ###- p < 0,001 , ## - p < 0,01, # p < 0,05 достовірність різниці між показниками породи ЧБП та показниками інших порід*

З даних наведеної таблиці видно, що в усіх досліджуваних популяціях CTSL-локус виявився поліморфним, і частота алеля C була вищою ніж частота алеля T, окрім популяції свиней ЧБП, де частоти алелів розподілились порівну. Частота потенційно корисного алеля C була нижчою у популяціях породи ЧБП та УСР. Найбільша частота алелю C була у популяції свиней миргородської породи і становила 0,990, що, відповідно, не дає можливості вести маркерну селекцію за CTSL-локусом у миргородській породі. Для порівняння, у великій білій породі італійської селекції частота алеля C становить 0,84, в породах італійський ландрас – 0,85, італійський дюрок – 0,50, п'єтрен – 0,90, бельгійський ландрас – 0,75, мейшан – 0,79 [9].

Щодо розподілу генотипів, то для всіх досліджуваних популяцій не було виявлено достовірного відхилення від панміктичної рівноваги, розрахованої за формулою Гарді-Вайберга, що свідчить про те, що досліджувані популяції знаходяться в стані генетичної рівноваги.

Найвища фактична гетерозиготність за локусом CTSL спостерігалася в популяції ЧБП, що є наслідком відносної «молодості» породи, яка створена шляхом складного відтворювального схрещування: при створенні породи використовувались 5 вихідних порід, у тому числі порода дюрок, в якій теж зафіксовано високий рівень гетерозиготності (Н-0,50) [9].

Отже, результати аналізу розподілу CTSL-алелів і генотипів свідчать про потенційну можливість проведення маркерної селекції на внутрішньопородній основі з використанням в якості генетичного маркера SNP гена катепсину L у всіх досліджуваних породах і типах свиней, окрім миргородської породи.

Висновки. В породах свиней велика чорна, велика біла внутріпородний тип 1, велика біла англійської селекції, українська степова біла, українська степова ряба, полтавська м'ясна, українська м'ясна, червонобілопояса локус гену катепсину L є поліморфним. У всіх досліджених популяціях і групах свиней відхилення в розподілі CTSL-генотипів від рівноваги, розрахованої за формулою Гарді-Вайберга, не є достовірним. Це свідчить про те, що CTSL-локус не залучений у селекційний процес. Масовий скринінг племінного поголів'я свиней в Україні за геном катепсину L дозволить провести маркерну селекцію за поліморфізмом g. 143C>T гену CTSL.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Балацький В.Н. Полиморфизм локуса рецептора эстрогена 1 в популяциях свиней разных генотипов и его ассоциация с репродуктивными признаками свиноматок

крупной белой породы / В.Н. Балацький, А.М. Саенко, Л.П. Гришина // Цитология и генетика. – 2012. – № 4. – С. 48-54.

2. Глазко В.И. ДНК-технологии и биоинформатика в решении проблем биотехнологий млекопитающих / В.И. Глазко, Е.В. Шульга, Т.Н. Дымань и др. – Белая Церковь, 2001. – 488 с.

3. 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 та ін. // Вісник тов-ва генетиків і селекціонерів – 2008. – Т.6 №2. – С. 240-245.

4. Лядский И.К. Связь Asp298-Asn-полиморфизма гена mc4r с толщиной спинного сала у свиней крупной белой породы / И.К. Лядский, А.А. Гетя, К.Ф. Почерняев // Цитология и генетика. – 2011. – № 2. – С. 52-56.

5. Соколов Б.П. Выделение высокомолекулярной эукариотической ДНК с использованием ацетата калия / Б.П. Соколов, В.В. Джемелинский // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 1989. – № 6. – С. 45-46.

6. Garcio-Garrido J.A. Activity of cathepsin B, D, H and L in Spanish dry-cured ham of normal and defective texture / J.A. Garcio-Garrido, R. Quiles-Zafra, J. Tapiador at al. // Meat Science. – 2000. – Vol. 56. – P. 1-6.

7. Fontanesi L. Regional localization of the porcine cathepsin H (CTSH) and cathepsin L (CTSL) genes / L. Fontanesi, R. Davoli, M. Yerle // Animal Genetics. . – 2001. – Vol. 32 (5). – P. 321-323.

8. Fontanesi L. 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 et al. // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39(1). – P. 109-115.

9. 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 et al. // Meat Science. – 2010. – Vol. 85. – P. 331-338.

10. 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 et al. // J. Anim. SCI– 2008. – Vol. 86. – P. 3300-3314.

11. Roth W. Cathepsin L deficiency as molecular defect of furless: hyperproliferation of kertinocytes and perturbation of hair follicle cycling / W. Roth, J. Deussing, V.A. Botchkarev et al. // FASEB J. . – 2000. – Vol. 14. – P. 2075-2086.

12. Spotter A. Characterization and comparative mapping of the porcine CTSL gene indicates a novel synteny between HSA9q21→q22 and SSC10q11→q12 / A. Spotter, C. Drogemuller, H. Kuiper et al. // Cytogenetics and Cell Genetics. – 2001. – Vol. 95, №1-2. – P. 92-96.

13. Song G. Cathepsine L, and Cystatin C in the Porcine Uterus and Placenta: Potential Roles in Endometrial/Placental Remodeling and in Fluid-Phase Transport of Proteins Secreted by Uterine Epithelia Across Placental Areolae1 / G. Song, D.W. Bailey, K. A. Dunlap et al. // Biology of reproduction. – 2010. – Vol. 82. – P. 854-864.

14. Turk B. Structural and functional aspects of papain-like cysteine proteinases and their protein inhibitors / B. Turk, V. Turk and D. Turk // Biol.Chem. – 1997. – Vol. 378. – P. 141-150.

15. Turk V. Lysosomal cysteine proteases: facts and opportunities / V. Turk, B. Turk and D. Turk // The EMBO J. – 2001. – Vol. 20, №17. – P. 4629-4633.

16. Walsh P.S. Chelex-100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material / P.S. Walsh, D.A. Metzger, R. Higuchi // BioTechniques. – 1991.– № 10. – P.506.

Буслик Т.В., Балацкий В.Н., Коринный С.Н. Полиморфизм гена катепсина L в разных популяциях свиней.
Представлены результаты ПЦР-ПДРФ типирования полиморфизма G149R гена катепсина L одного внутрипородного типа (УКБ-1) крупной белой породы и восьми разных пород, которые разводятся в Украине: крупная черная, крупная белая английской селекции, украинская степная белая, украинская степная рябая, полтавская мясная, украинская мясная, миргородская и краснобелопоясая. Обоснована возможность проведения маркерной селекции на повышение экономически важных показателей свиней всех исследованных пород, кроме миргородской породы.
Ключевые слова: полиморфизм гена катепсина, популяции свиней, маркерная селекция.

T. Buslyk, V. Balatsky, S. Korinny. The polymorphism of catepsin L gene in different pigs' populations.
The results of PCR-RFLP typing G149R polymorphism of gene cathepsin L in intrabreed type (ULW-1) and eight different breeds of pigs, which are bred in Ukraine: the Large Black, the Large White, the Large White of English selection, the Ukrainian Steppe White, the Ukrainian Steppe Spotted, the Poltava Meaty, the Ukrainian Meaty, the Mirgorod and the Red-whitebelted breeds are presented. The possibility of carrying out the marker assisted selection to improve economically important indicators in pigs of all investigated breeds, except the Mirgorod breed is justified.
Key words: polymorphism of catepsin Lltnt, populations of pigs, marker selection.

УДК 636.39;4.082

Гарська Н.О., кандидат біологічних наук
Луганський національний аграрний університет
Перетятько Л.Г., кандидат сільськогосподарських наук
Павленко О.М., провідний фахівець
Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

ОСОБЛИВОСТІ ОСТЮКОВОГО ВОЛОССЯ КНУРІВ ПОЛТАВСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ СВИНЕЙ

Рецензент - кандидат біологічних наук К.Ф. Почерняєв

Наведено дані досліджень волосяного покриву кнурів плідників полтавської м'ясної породи в розрізі генеалогічної структури, з урахуванням нових заводських ліній. Встановлено, що у кнурів полтавської м'ясної породи спостерігається тенденція до зміни довжини та прямолінійності щетини за лінійною приналежністю. У середньому за всіма кнурами довжина волосся вірогідно позитивно пов'язана з середньою живою масою r=0,2 (p≤0,01) і довжиною тулуба r=0,26 (p≤0,01), а також, виявлено негативний кореляційний зв'язок коефіцієнта прямолінійності щетини з середньою живою масою кнурів r=-0,12 (p≤0,05) і довжиною тулуба r=-0,18 (p≤0,01).

Ключові слова: полтавська м'ясна порода свиней, заводські лінії, прямолінійність щетини, коефіцієнт кореляції, розвиток.