

УДК 575:636.4

Костенко С.О., кандидат біологічних наук  
Сидоренко О.В., аспірант\*

Національний університет біоресурсів і природокористування України

**ВНУТРІПОРОДНА ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ СВИНОМАТОК  
ПОРОДИ ЛАНДРАС ЗА ГЕНАМИ РЕЦЕПТОРІВ ЕСТРОГЕНУ ТА  
МЕЛАНКОРТИНУ-4**

*Анотація.* Методом ПЛР-ПДРФ проаналізовані тварини родин Аллі, Берта, Боділь, Джос, Хеберг, Д.селекції, Міра, породи ландрас свиней. Усі досліджені групи тварин виявилися поліморфними за генами, пов'язаними з вітворними (*ESR*) та відгодівельними (*MC4R*) якостями. Частоти алелів та генотипів досліджених тварин відповідають породним особливостям популяцій. В господарстві здійснюється активна селекційна робота по відбору, в яку залучаються досліджені алелі двох генів.

*Ключові слова:* *sus scrofa*, ландрас, родини, ген *ESR*, ген *MC4R*, індекс фіксації Райта, відтворні, відгодівельні якості.

Порода ландрас посідає сьоме місце серед найбільш чисельних порід свиней, яких розводять в Україні. Вона виведена від довговухих маршових свиней Данії, до яких приливали кров великої білої породи [4].

Тварини породи ландрас мають беконний напрям продуктивності. Цю породу широко використовують у породотворчому процесі, в поєднанні з іншими породами для отримання помісного та гібридного молодняка в складі генотипу як материнської, так і батьківської ліній, а також при чистопородному розведенні [4].

Тому важливе значення мають репродуктивні якості свиноматок породи ландрас. В зв'язку з цим актуальним є вивчення поліморфізму родин породи ландрас за геном рецептору естрогену (*ESR*).

**Методика досліджень.** Дослідили свиней породи ландрас ( $n = 50$ ), що утримуються у СВАТ агрокомбінат «Калита» Київської області. Свиноматок для досліду відбирали рендомізовано з родин англійської (Боділь, Джос, Данської селекції (Д.селекції)), української (Міра), та змішаної (Хеберг, Берта, Аллі) селекції.

Генетичний аналіз здійснювали у відділі генетики Інституту розведення і генетики тварин НААН України. Геномну ДНК виділяли з волосяних фолікулів за допомогою комплекту реактивів «ДНК-сорб В» (АмпліСенс, Росія). У пробірку 1,5 мл вносили 15 – 25 волосяних фолікулів, лізис проводили 2 год. Подальше виділення ДНК здійснювали відповідно до рекомендацій виробника. Генотипування свиней проводили методом ПЛР-ПДРФ (полімеразна ланцюгова реакція, поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів) за методикою, розробленою Українською лабораторією якості і безпеки продукції агропромислового комплексу НУБіП України [2].

\* Науковий керівник кандидат біологічних наук **Костенко С.О.**

Після ампліфікації за генами *ESR* і *MC4R* в отриманий продукт вносили рестриктази *Pvu II* і *Taq I* при 37 і 65 оС, відповідно, впродовж 12 – 16 год.

Рестрикційні фрагменти розділяли в 4 %-ному агарозному гелі (Хелікон, Росія). Візуалізацію електрофореграм проводили на транслюмінаторі в УФ світлі. Після дії рестриктази *Pvu II* генотип *AA* мав фрагмент розміром 120 п.н, *BB* – 65 та 55 п.н. Після дії рестриктази *Taq I* генотип *PP* мав фрагмент розміром 226 п.н, *MM* – 156 і 70 п.н.

Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими методами (Л.А. Животовський, 1991)[1] та за допомогою програмного забезпечення *Excel 2007* та *PopGen version 1.31*.

**Результати досліджень.** Дані, отримані в результаті генотипування свиней, які належали до різних родин породи ландрас за геном *ESR*, розміщені в таблиці 1.

Таблиця 1. Частота алелів і генотипів свиноматок різних родин породи ландрас за геном *ESR*

Родини	N	Частота генотипів			Частота алелів		$\chi^2$	
		<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>	<i>A</i>	<i>B</i>		
Аллі	8	Ф	0,250±0,153	0,750±0,153	-	0,625±0,052	0,375±0,068	25,28***
		О	0,391±0,173	0,141±0,123	0,469±0,176			
Берта	11	Ф	0,450±0,150	0,450±0,150	0,100±0,090	0,682±0,040	0,318±0,058	16,24***
		О	0,465±0,150	0,101±0,091	0,434±0,149			
Боділь	8	Ф	0,630±0,171	0,130±0,119	0,250±0,153	0,688±0,046	0,313±0,068	1,10
		О	0,472±0,176	0,098±0,105	0,430±0,175			
Д. селекції	8	Ф	0,380±0,172	0,500±0,177	0,120±0,115	0,625±0,052	0,375±0,068	9,31***
		О	0,391±0,173	0,141±0,123	0,469±0,176			
Джос	3	Ф	-	0,670±0,271	0,330±0,271	0,333±0,111	0,667±0,079	0,76
		О	0,111±0,181	0,445±0,287	0,444±0,287			
Міра	3	Ф	0,670±0,271	-	0,330±0,271	0,667±0,079	0,333±0,111	0,76
		О	0,445±0,287	0,111±0,181	0,444±0,287			
Хвеберг	9	Ф	0,440±0,165	0,560±0,165	-	0,722±0,039	0,278±0,063	30,86***
		О	0,521±0,167	0,077±0,089	0,401±0,163			

Генетичний аналіз свиноматок, які належать до різних родин породи ландрас, свідчить про те, що за частотою алелів більш подібними є родини Аллі, Берта, Боділь, Д.селекції та Міра. У цих родин частота алеля *B* коливається від 0,313 до 0,375. В родині Хвеберг частота алеля *B* виявилася найменшою - 0,278. Вищезазначені родини потрапили в один кластер при виявленні генетичних відстаней між родинами (рис. 1).

До окремого кластеру належить родина Джос. У свиноматок цієї родини не виявлені тварини з генотипом *AA*, а частота алеля *B* найбільша серед інших родин і дорівнює 0,667.

За частотою генотипів кожна родина мала характерний для неї розподіл. Найвища частота генотипу *AA* була у родин Міра і Боділь (0,670 та 0,630, відповідно). Найбільше гетерозигот було в родин Аллі (0,75), Джос (0,67), Хвеберг (0,56) та Д.селекції.

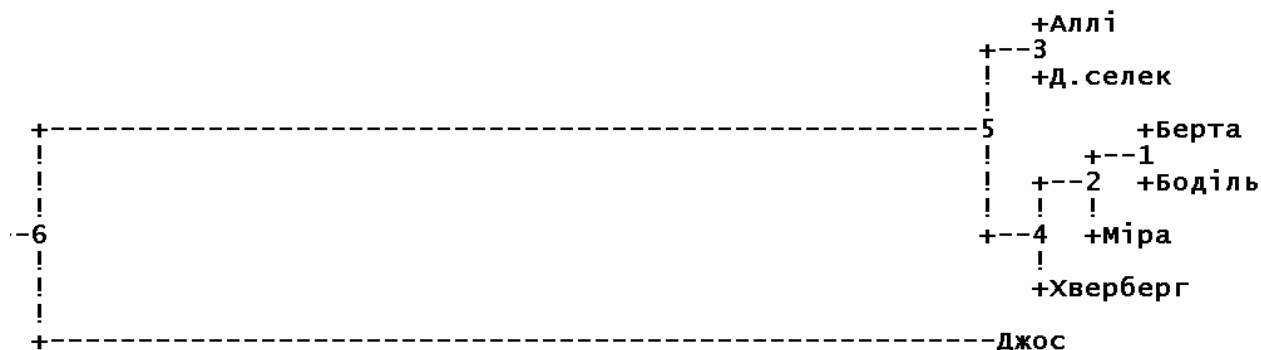


Рис. 1. Дендрограма генетичних відстаней (за Неєм, 1972)

Не були виявлені тварини з генотипом *BB* у родинах Аллі і Хвеберг. Досить низькою була виявлена частота *BB* і інших досліджених родинах 0,10 - 0,33).

Порівнюючи отримані нами данні з показниками, виявленими О.Кайлачаковою (Росія) [3], R.Omelka at al. (Польща) [11], И.П.Шейко (Білорусь) [5], В.Santana (Бразилія) [6], слід зазначити, що для породи ландрас загалом характерна низька частота носіїв бажаних алеля *B* та генотипу *BB*.

Так, популяція ландрас Німеччини взагалі виявилася мономорфною, в ній не були виявлені носії алеля *B* [7]. Серед польських та чеських ландрасів не знайшлося тварин-носіїв генотипу *BB*, а частота генотипу *AA* дорівнювала 0,88 та 0,97, відповідно [11, 10]. Дещо вищою була частота алеля *B* в популяції породи ландрас в Бразилії (0,19) [6]

, Іспанії (0,07 - 0,13) [8], Росії (0,082) [3]. Таким чином, досліджені нами родини породи свідчать про її високий генетичний потенціал за геном *ESR*.

Порівняння фактичного розподілу генотипів з теоретичним згідно закону Харді-Вайнберга виявили, що в частині родин (Аллі, Берта, Д.селекції, Хвеберга) спостерігається статистично достовірне відхилення. Це може свідчити про залученість досліджених нами алелів до селекційного процесу.

Рівень гетерозиготності та індекс фіксації Райта у свиноматок відображено на рисунку 2. Позитивний індекс фіксації означає те, що в родині Боділь та Міра відбувається тісний інбридинг, адже фактичний рівень гетерозиготності нижче від очікуваного в родині.

В родинах Аллі, Джоса і Хвеберга індекс фіксації Райта негативний, це свідчить, що фактична гетерозиготність вища, ніж очікувана.

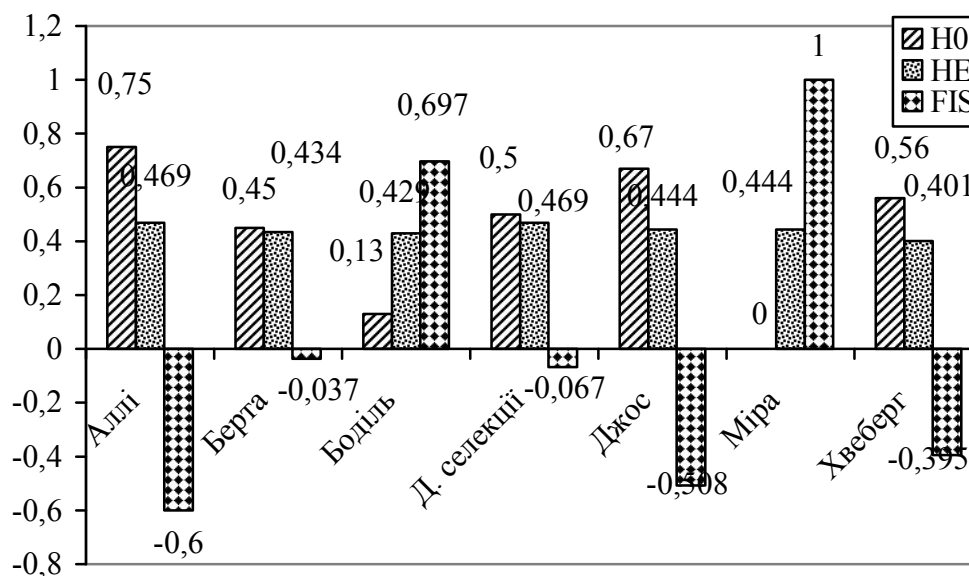


Рис. 2. Рівень гетерозиготності та індекс фіксації Райта у свиноматок породи ландрас за геном *ESR*

Таблиця 2. Частота алелів і генотипів свиноматок різних родин породи ландрас за геном *MC4R*

Родини	N	Частота генотипів			Частота алелів		$\chi^2$	
		MM	MP	PP	M	P		
Аллі	8	Ф	0,500±0,177	0,500±0,177	-	0,750±	0,250±	27,56***
		О	0,563±0,175	0,063±0,086	0,375±0,171	0,038	0,066	
Берта	11	Ф	0,273±0,134	0,727±0,134	-	0,636±	0,364±	34,91***
		О	0,404±0,148	0,132±0,102	0,463±0,150	0,044	0,058	
Боділь	8	Ф	0,250±0,153	0,750±0,153	-	0,625±	0,375±	25,28***
		О	0,391±0,173	0,141±0,123	0,469±0,176	0,052	0,068	
Д. селекції	8	Ф	0,500±0,177	0,500±0,177	-	0,750±	0,250±	27,5***
		О	0,563±0,175	0,063±0,086	0,375±0,171	0,038	0,066	
Джос	3	Ф	-	0,667±0,272	0,333±0,272	0,333±	0,667±	0,75
		О	0,111±0,181	0,445±0,287	0,444±0,287	0,111	0,079	
Міра	3	Ф	0,333±0,272	0,667±0,272	-	0,667±	0,333±	9,78***
		О	0,445±0,287	0,111±0,181	0,444±0,287	0,079	0,111	
Хвеберг	9	Ф	0,333±0,157	0,667±0,157	-	0,667±	0,333±	29,35***
		О	0,445±0,166	0,111±0,105	0,444±0,166	0,045	0,064	

Частоти алелів та генотипів різних родин за геном *MC4R* представлені в таблиці 2. Усі досліджені родини крім Джоса мають статистично достовірне відхилення від теоретичного очікуваного згідно закону Харді-Вайнберга. Переважна більшість

особин виявилася або гомозиготними *MM*, або гетерозиготними *MP*. Лише в родині Джос знайдені гомозиготи *PP* (0,33). Індекс фіксації Райта в усіх досліджених родинях виявився негативним. Таким чином, слід зазначити, що родина Джос відрізняється від інших досліджених родин за розподілом генотипів і частотою алелів двох генів.

Відсутність серед більшості досліджених особин гомозигот *PP* може бути пояснена беконним напрямом продуктивності породи. Адже носії генотипу *PP* сприяє більшому споживанню корму у носіїв, відсутності ефекту насиченості і як наслідок – більш швидкому росту, а потім – збільшенню товщини шпику.

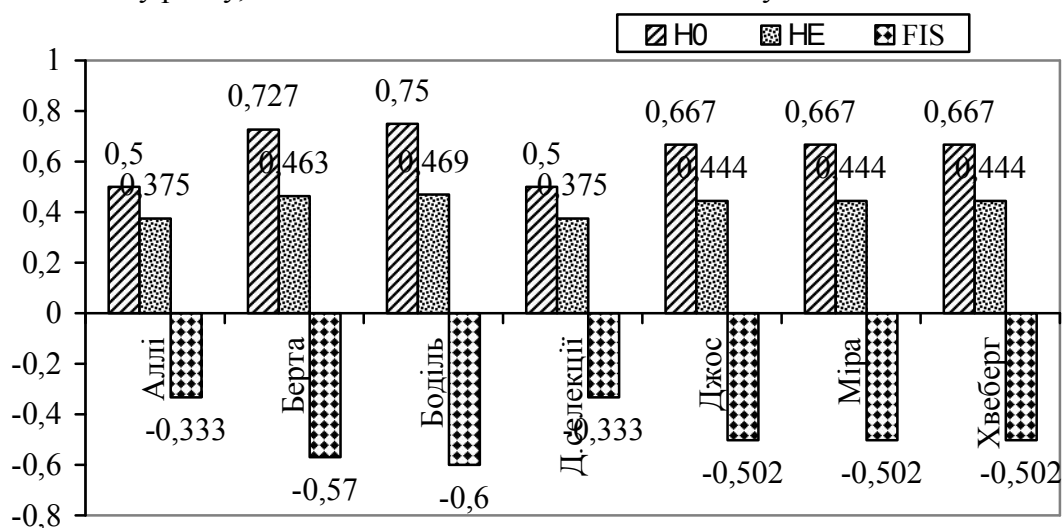


Рис. 3. Рівень гетерозиготності та індекс фіксації Райта у свиноматок породи ландрас за геном *MC4R*

Таблиця 3. Генетичні вістані між різними родинями породи ландрас

Тварини	Аллі	Берта	Боділь	Д. Седекції	Джос	Міра	Хвеберг
Аллі	-	0,993	0,991	0,999	0,785	0,998	0,993
Берта	0,007	-	0,999	0,986	0,807	0,999	0,998
Боділь	0,009	0,0001	-	0,983	0,810	0,998	0,998
Д. селекції	0,001	0,014	0,017	-	0,772	0,993	0,986
Джос	0,242	0,214	0,211	0,259	-	0,800	0,769
Міра	0,003	0,001	0,002	0,008	0,223	-	0,998
Хвеберг	0,008	0,002	0,002	0,014	0,263	0,003	-

### Висновки:

1. Таким чином, був проведений генетичний аналіз свиноматок різних родин породи ландрас за генами, які відповідають за відтворні та відгодівельні якості.

2. Частоти алелів гену рецептору естрогену відповідають характерним для породи ландрас.

3. Досліджені родини мають значний генетичний потенціал по репродуктивним якостям завдяки високій частоті господарські корисного алеля *B* в порівнянні з тваринами цієї породи, які були досліджені закордоном.

4. Родини відрізняються між собою по розподілу генотипів. Найбільш сильно відмінна від інших родина Джос, яка потрапила в окремих кластер.

### Література

1. Животовский Л.А. Популяционная биометрия / Л.А. Животовский – М. : Наука, 1991. – 272 с.
2. Ідентифікація алельних варіантів генів *ESR* та *MC4R*, які впливають на господарсько-корисні ознаки свині свійської *Sus scrofa*, L. / О.М. Коновал, С.О. Костенко, В.Г.Спиридонов, С.Д. Мельничук. – К. : Видавничий центр НУБіП України. – 2008. – 24 с.
3. Калайчакова О. Популяционно-генетический анализ гена *ESR* свиней / О. Калайчакова // Животноводство России [спецвыпуск свиноводство]. – 2008 – С. 19.
4. Мировой генофонд свиней: Монография / [В.И. Герасименко, М.Д. Березовский, В.М.Нагиевич и др.]. – Харьков : Эспада, 2006. – 520 с.
5. Шейко И.П. Разработка методов молекулярной генной диагностики и их использование в свиноводстве Беларуси / И.П.Шейко, Н.А.Лобан, О.Я.Василук // Весці Нацыянальнай Акадэміі Навук Беларусі.- 2005.- № 1.- С. 62-66.
6. Association of the estrogen receptor gene *Pvu II* restriction polymorphism with expected progeny differences for reproductive and performance traits in swine herds in Brazil / V.A. Santana, F.H. Biase, R.C. Antunes [et al.] // Genetics and Molecular Biology. – 2006. – Vol. 29, № 2. – P. 273 – 277.
7. Drogemuller C. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines / C. Drogemuller, H. Hamann, and O. Distl // J. Anim. Sci. – 2001. – № 79. – P. 2565 – 2570.
8. Estrogen receptor polymorphism in Landrace pigs and its association with litter size performance. / J.L. Noguera, L. Varona, L. Gomez-Raya [et al.] // Livestock Production Science. – 2003. – № 82 – P. 53 – 59.
9. Goliasova E. Impact of the *ESR* gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs / E. Goliasova, J. Wolf // Anim. Gen. – 2004. – Vol. 4. – P. – 293 – 297.
10. Kmiec M. Study on a relation between estrogen receptor (*ESR*) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed / M. Kmiec, J. Dvorak, I.Vrtkova // Czech J. Anim. Sci. – 2002. – Vol. 47, № 5. – P. 189 – 193.
11. Simultaneous Detection of Malignant Hyperthermia and Genetic Predisposition or Improved Litter Size in Pigs by Multiplex PCR-RFLP/ R.Omelka, D.Vasicek, M. Martiniakova [et al.] // Folia biologica (Krakow). – 2004. – Vol. 52, № 1 – 2. – P. 113 – 115.

**Анотація.** Методом ПЦР-ПДРФ проаналізовані живітніе семей Алле, Берта, Бодил, Джос, Хвеберг, Д.селекції, Мира, породи ландрас свиней. Все исследованные группы живітних оказались полиморфными по генам, связанным с витворними (*ESR*) и откормочных (*MC4R*) качествами. Частоты аллелей и генотипов исследованных живітних отвечают породным особенностям популяций. В хозяйстве осуществляется активная селекционная работа по отбору, в которую вовлекаются исследования аллели двух генов.

**Ключевые слова:** sus scrofa, ландрас, семьи, ген ESR, ген MC4R, индекс фиксации Райта, воспроизводимые, откормочные качества.

**Abstract.** The method of PCR-PDRF is analyse the animals of families to Alli, Bert, Bodil', Dzhos, Khveberg, D.celecsion, Measure, Landras breed of pigs. All investigational groups of animals are appeared polymorphic by ESR and MC4R genes. Frequency of alleles and genotypes of investigational animals answer the pedigree features of populations. Active plant-breeding work on a selection, investigational alleled of two genes is attracted in which, is carried out in an economy.

**Key words:** sus scrofa, Landrace, family, gene ESR, gene MC4R, fixation index wright, reproductive, fattening qualities.