

EFFECTS OF GENOTYPE *LEPR* ON PRODUCTION TRAITS IN PIGS

Kováčik A.¹, Bulla J.¹, Trakovická A.²

¹Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

²Department of Genetics and Breeding Biology, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: anton.kovacik@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of this work was to analyze productive traits of pigs following polymorphism of *LEPR* gene. For experiment we used 102 young boars (50) and sows (52) of hybrid combination of Large White and Landrace breed. Genetic polymorphism both of genes was detected by PCR-RFLP. The PCR product was digested with *HpaII*. Three types of genotypes AA (14), AB (32) and BB (56) were confirmed in the set of pigs. The following polymorphism information content was found: PIC = 0.3249. AB genotype showed the highest average daily gain (ADG = 604.29 ± 24.23). The AA genotype showed statistically significant backfat thickness, which was the highest (BFT = 10.77 ± 0.43), but the proportion of lean meat was the lowest (LM = 57.64 ± 1.18). Genotype BB was characterized by the highest proportion of lean meat (LM = 59.98 ± 2.25) and the lowest backfat thickness (BFT = 8.98 ± 0.53) compared to the other genotypes. Regarding the tested parameters the most convenient is the genotype BB.

Key words: pig, polymorphism, *LEPR* gene, productive attributes

Acknowledgments: This work has been supported by VEGA project 1/0834/08 and 1/4440/07

ÚVOD

Produkčné vlastnosti hrajú dôležitú úlohu v ekonomike hospodárskych zvierat. Pri štúdiu kandidátskych génov, u ktorých sa predpokladá možný vplyv na produkčné vlastnosti, bol odhalený výrazný účinok génu pre leptínový receptor (*LEPR*) na obsah tuku bravčového mäsa ošípaných. Vincent et al. (1997) pomocou väzbového mapovania mikrosatelitmi identifikovali *LEPR* gén ošípanej na šiestom chromozóme. V prípade *LEPR* génu ošípanej boli identifikované štyri typy polymorfizmov. Ako prvý bol popísaný polymorfizmus detekovaný reštrikčným enzýmom *Hinfi* (Vincent et al., 1997). Ďalšie dva predstavujú intrónové substitúcie detekované reštrikčnými enzýmami *HpaII* a *RsaI* (Stratil et al., 1998) a napokon polymorfizmus identifikovaný metódou DGGE (Kopečný et al., 1997). Analýzou plemien Berkshire, Duroc, Hampshire a Landras Emmett et al. (2001) potvrdili polymorfizmus *LEPR* (*MboI*) s prevahou alely 2. Vyhodnotením vzťahu *LEPR* (*MboI*) génu k ukazovateľom kvality mäsa autori zistili preukazný vplyv na priemerné denné prírastky, na obsah IMF pri plemene Hampshire a na hrúbku chrbtovej slaniny plemena Landras (Emmett et al., 2001). Uplatnenie spomínaného kandidátneho génu priamo v selekčných programoch predstavuje možnú cestu dosiahnutia zníženia hrúbky chrbtovej slaniny bez redukcie vnútrovalového tuku. Cieľom práce bolo analyzovať genetickú variabilitu produkcie ošípaných na základe genotypu *LEPR* (*HpaII*) pomocou metódy PCR-RFLP.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente bol použitý biologický materiál od 102 jedincov, 50 kancov a 52 prasničiek hybridnej kombinácie Biela ušľachtilá a Landras. Zvieratá boli kŕmené štandardnou kŕmnou zmesou. Ako biologický materiál bola požívaná krv. DNA sme izolovali pomocou komerčného kitu NucleoSpin blood od firmy Macherey-Nagel. Na amplifikáciu cieľových úsekov *LEPR* sme použili špecifické oligonukleotidové primery:

FOR: 5' GGA AGG CAT TTG TTT CAG CAG TAA 3'

REV: 5' CAA GTC CTC TTT CAT CCA GCA CTG 3' (Stratil et al., 1998)

PCR reakčná zmes obsahovala: 5 pmol primera FOR a REV, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 1,0 U *Taq* DNA polymerázy Recombinant (Promega.), PCR reakčný roztok (200 mM Tris-HCl pH 8,4, 500 mM KCl) a približne 50 ng DNA.

Tab.1 Teplotný a časový profil PCR reakcie

Teplotný a časový profil	<i>LEPR</i>	
	teplota	čas
„štart“	95 °C	2 min
denaturácia	94 °C	1 min
annealing	55 °C	1 min
polymerizácia	72 °C	2 min
elongácia	72 °C	10 min
ochladenie	4 °C	
počet cyklov	30	

Genotypovanie ošípaných sme uskutočnili pomocou PCR-RFLP metódou. Produkt amplifikácie sme analyzovali pomocou endonukleázy *HpaII*, ktorá špecificky rozoznáva potencióálne miesto mutácie v príslušnom PCR produkte. Identifikácia a analýza PCR produktu po izolácii, amplifikácii a štiepení bola uskutočňovaná elektroforetickou separáciou v agarózovom géle, v TBE tlmiaacom roztoku. Gél obsahoval interkalačné činidlo etídium bromid (0,5 µg/ml). Po skončení elektroforézy sme naštiepený PCR produkt detekovali pomocou UV transiluminátora. Priemerný denný prírastok (ADG, g) bol meraný pri hmotnosti od 30 kg do 90 - 100 kg. Meranie hrúbky chrbtovej slaniny (BFT, mm) a podielu chudého mäsa (LM, %) bolo vykonané podľa štandardnej metodiky STN 466164. Štatistické analýzy k produkčným ukazovateľom boli analyzované pomocou programu SAS (2000).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V súbore ošípaných boli potvrdené tri typy genotypov AA(14), AB(32) a BB(56). Frekvencie genotypov sú prezentované v tabuľke 2. Najčastejšie sa vyskytoval homozygotný genotyp BB (0,549), nasledoval heterozygotný genotyp AB (0,314) a najmenej bolo identifikovaných jedincov s genotypom AA (0,137). V súbore nebola potvrdená genotypová rovnováha. Vo frekvencii alel boli zaznamenané významné rozdiely. Vyššia frekvencia génu bola zaznamenaná pre alelu B (0,7058) oproti alele A (0,2942). Na základe čoho bol zistený nízky polymorfný informačný obsah (PIC – 0,3249). Výskyt heterozygotov bol dostatočný H_e (0,4153), čo je pri hybridných populáciách očakávané.

Tab. 2 Genotypy a frekvencie alel génu *LEPR* v populácii ošípaných (n=102)

Gén	Genotypy			Alely		χ^2 - test	H_e	PIC
	AA	AB	BB	A	B			
<i>LEPR</i>	14	32	56	0.2942	0.7058	6.0948 ⁺⁺	0.4153	0.3249

$P>0.05^+$, $P>0.01^{++}$, $P>0.001^{+++}$

Na základe vybraných produkčných ukazovateľoch, bol zistený najvyšší priemerný denný prírastok (ADG) pri heterozygotoch AB (604.29 ± 24.23). Heterozygotné jedince AB vykazovali štatisticky významne vyšší priemerný denný prírastok (ADG) oproti homozygotným genotypovým kombináciám AA (596.30 ± 28.16). Pri homozygotnom genotype AA, bola štatisticky významne potvrdená najvyššia hrúbka chrbtovej slaniny (BFT = 10.77 ± 0.43) a najnižší podiel cenných mäsitých častí (LM - 57.64 ± 1.18). V tomto ukazovateli (LM) sme zistili pri ostatných genotypových kombináciách vyšší podiel. Na základe celkového zhodnotenia môžeme potvrdiť, že ošípané s genotypom BB vykazujú vyšší podiel cenných mäsitých častí (LM = 59.98 ± 2.25), nižšiu hrúbku chrbtovej slaniny (BFT = 8.98 ± 0.53) oproti ostatným genotypovým kombináciám. Na výšku ukazovateľa priemerný denný prírastok (ADG), v testovanej skupine, bol pozorovaný vplyv heterozygotnosti.

Emnett et al. (2001) zistili vplyv *LEPR* (*MboI*) génu na priemerný denný prírastok. Výsledky našej analýzy potvrdili vplyv *LEPR* génu ku prírastkom. V prípade hrúbky chrbtovej slaniny zistili preukázny vplyv génu. Toto zistenie korešponduje s výsledkami autorov Óvilo et al. (2002), ale nekorešponduje s výsledkami Mindeková a Trakovická (2006). Emnett et al. (2001) tiež pri plemene Landras potvrdili vplyv *LEPR* (*MboI*) génu na hrúbku chrbtovej slaniny.

Tab. 3 Genotypy génu *LEPR* v spojitosti s produkčnými parametrami ošápaných

Gén (RE)	Genotypy		
<i>LEPR (HpaII)</i>	AA (14)	AB (32)	BB (56)
ADG (g)	596.30 ^a ± 28.16	604.29 ^a ± 24.23	600.09 ± 30.97
BFT (mm)	10.77^a ± 0.43	10.02^{ab} ± 0.53	8.98^b ± 0.53
LM (%)	57.64 ^{ab} ± 1.18	58.91 ^a ± 1.75	59.98 ^b ± 2.25

*ADG = priemerný denný prírastok (g), BFT = hrúbka chrbtovej slaniny (mm), LM = cenné mäsité časti (%)

** P ≤ 0.05, ^A P = ≤ 0.01, ^A P = P ≤ 0.001

ZÁVER

Na základe polymorfizmu génu *LEPR (HpaII)* a na základe zhodnotenia rozdielov medzi jednotlivými genotypy z hľadiska testovaných parametrov, je vhodný genotyp BB. Tento genotyp dosahuje najvyšší podiel cenných mäsitých častí a najnižší podiel pri hrúbke chrbtovej slaniny, čo je možné využiť na produkciu bravčového mäsa s požadovanými dietetickými parametrami.

LITERATÚRA

Emnett R., Moeller S., Irwin K., Rothschild M. F., Plastow G., Goodwin R. (2001): *Association Studies With Leptin Receptor, Melanocortin-4 Receptor, Melanocortin-5 Receptor, and Peroxisome Proliferator Activated Receptor-γ*. In: Eastridge, M. L., Bacon, W. L., Knipe, C. L., Meeker, D. L., Turner, T. B., and Zartman, D. L. Research and Reviews: Swine 2001. (OARDC Special Circular; 185): 57-63.

Kopečný M., Stratil A., Čepica S. (1997): Polymorphism at the porcine *LEPR* gene detected by PCR-DGGE. In: *Animal Genetics*, 28, 1997, p. 461.

Mindeková S., Trakovická A., Strapáková E. (2006): Effects of genotypes *LEPR* and *H-FABP* on pigs production, *Acta fytotechnica et zootechnica – Special No.*, 32-33.

Óvilo C., Oliver M. A. et al. (2002): Test for positional candidate genes for body composition on pig chromosome 6. In: *Genet. Sel. Evol.*, 34, 2002, p. 465-479.

Stratil A., Kopečný M., Moser G. et al., (1998): *HpaII* and *RsaI* PCR-RFLPs within an intron of the porcine leptin receptor gene (*LEPR*) and its linkage mapping. In: *Anim. Genetics*, 29, 1998, p. 398-413.

Vincent A. L., Wang L., Rotschild M. F. (1997): Rapid communication: a restriction fragment length polymorphism in the porcine leptin receptor (*LEPR*) gene. In: *J. Anim. Sci.*, 75, 1997, p. 2287.