



Генетика, селекція, біотехнологія

УДК 636.92.033:575.113/22

© 2025

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА ГОРМОНУ РОСТУ У ПОПУЛЯЦІЯХ КРОЛІВ ПОРІД ШИНШИЛА ТА ПОЛТАВСЬКЕ СРІБЛО

В.В. Дзіцюк¹, О.В. Бойко², О.Ф. Гончар³,
О.М. Гавриш⁴, О.Є. Гузеватий⁵

¹доктор сільськогосподарських наук, професор

²⁻⁴кандидати сільськогосподарських наук, старші наукові співробітники

⁵кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник

¹Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця

Національної академії аграрних наук України

вул. Погребняка, 1, с. Чубинське Бориспільського р-ну Київської обл., 08321, Україна

²⁻⁴Черкаська дослідна станція біоресурсів

Національної академії аграрних наук України

вул. Пастерівська, 76, Черкаси, 18036, Україна

⁵Інститут тваринництва степових районів імені М.Ф. Іванова «Асканія-Нова» —

Національний науковий селекційно-генетичний центр з вівчарства

вул. Погребняка, 1, с. Чубинське Бориспільського р-ну Київської обл., 08321, Україна

e-mail: ¹valentynadzitsiuk@gmail.com, ²aleksboy18@meta.ua,

³of.gonchar@gmail.com, ⁴gavrish.olexandr@gmail.com, ⁵oleg_guzevatiy@ukr.net

ORCID: ¹0000-0001-9697-4165, ²0000-0002-3917-5583,

³0000-0003-2269-9767, ⁴0000-0002-8632-6508, ⁵0000-0002-2470-5430

Надійшла 12.12.2024

Мета. Дослідити генетичну структуру популяції кролів за поліморфізмом локусу гена гормону росту (GH) та визначити алельні і генотипові варіанти за маркерною мутацією с.-78С>Т. **Методи.** Дослідження проводили на популяціях кролів порід шиншила та полтавське срібло. Генотипування здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції – поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПЛР – ПДРФ) і подальшим рестрикційним аналізом. ДНК виділяли з індивідуальних зразків цільної крові. Ампліфікацію виконували у програмованому термоциклері MiniAmp (Thermo Fisher Scientific) з використанням специфічних праймерів. Продукти ампліфікації обробляли ендонуклеазою рестрикції BstUI. Рестрикційні фрагменти розділяли у 2,0% агарозному гелі з додаванням бромистого етидію. На основі отриманих даних розраховували фактичний (O) та теоретичний розподіл генотипів (E), частоти генотипів і алелів, фактичну (Ho) й очікувану (He)

гетерозиготність відповідно до загальноприйнятих методик. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програмного забезпечення GENALEX 6.5 та Microsoft Excel 2019. Результати. Виявлено BstUI-поліморфізм у позиції -78 стартового кодону екзону I (с.С>Т). У досліджених порід кролів переважав гетерозиготний генотип СТ з частотою 0,570 у шиншила та 0,605 у полтавського срібла. Гомозиготний генотип ТТ траплявся найрідше — з частотою 0,17 та 0,18 відповідно. Частота алеля С становила 0,60, алеля Т — 0,51 у популяції кролів породи шиншила; у полтавського срібла частоти цих алелів перебували на рівні 0,51 та 0,48 відповідно. Результати досліджень засвідчили, що обидві дослідні популяції за локусом GH перебувають у стані генетичної рівноваги за Харді — Вайнбергом, що свідчить про відсутність мікроеволюційних змін у процесі їх відтворення. **Висновки.** Особливості розподілу особин за різними генотипами гена GH у популяціях кролів обох порід, виявлені в цьому дослідженні, обґрунтовують необхідність подальших досліджень зі встановлення асоціативного зв'язку між алельними варіантами гена гормону росту і кількісними та якісними показниками продуктивності цього виду сільськогосподарських тварин.

Ключові слова: поліморфізм, ген GH, алель, генотип, кролі.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202501-05>

Кріль європейський *Oryctolagus cuniculus* є унікальним видом тварин завдяки великій різноманітності порід, ліній та популяцій із різними фенотиповими варіантами й господарськи корисними ознаками. Традиційна селекція, заснована на доборі за фенотиповими ознаками, є основою сучасного кролівництва [1]. Однак молекулярна генетика додає новий вимір до селекційного процесу. Визначення генетичної структури популяції за локусами генів, пов'язаних із продуктивністю, дає змогу збільшити точність прогнозування результатів схрещувань, що значно підвищує ефективність селекційного процесу [2, 3].

Результати досліджень, отримані вченими різних країн, свідчать про те, що одним із перспективних молекулярних маркерів для досліджень зв'язку із продуктивними і репродуктивними ознаками кролів є локус гена гормону росту [4, 5]. Ген гормону росту GH — один із ключових генів, що визначають фенотип кроля, — відіграє життєво важливу роль у постнатальному розвитку та бере

участь у регуляції різних біологічних і метаболічних функцій, включаючи нарощування м'язової маси та ріст кісток [4]. Цей ген розташований на хромосомі 19 і містить 4 інтрони та 5 екзонів, кодує блок із 216 амінокислот [5].

Загалом мутації гена гормону росту GH описані для різних видів сільськогосподарських тварин: великої рогатої худоби [6, 7], кіз [8], овець [9], свиней [10]. Алельні варіанти гена гормону росту (GH) у кролів та їхній вплив на продуктивність досліджували автори праць [4, 11, 12]. Виявлено асоціацію між BstUI-поліморфізмом у положенні -78 старт-кодону екзону I гена гормону росту (с.-78С>Т) і такими показниками, як швидкість росту, маса тіла та якість м'яса тварин [13–15]. Отримані дані ставлять цей локус у ряд перспективних для досліджень генетичної структури різних порід кролів. Проте проведений нами аналіз літератури не виявив публікацій про дослідження поліморфізму гена гормону росту в популяціях кролів української селекції.

Мета досліджень — проаналізувати генетичну структуру популяції кролів за SNP с.-78С>Т у локусі гена гормону росту та визначити частоту алелів і генотипів.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили у відділі генетики і біотехнології тварин Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН та на експериментальній кролефермі Черкаської дослідної станції біоресурсів НААН. Як об'єкт досліджень використали популяції кролів порід шиншила (16 гол.) та полтавське срібло (38 гол.). Геномну ДНК виділяли з індивідуальних зразків із використанням набору реагентів «ДНК-сорб-В» (AmpliSense Biotechnologies) згідно з інструкцією виробника.

Для ампліфікації ділянки гена гормону росту (GH) у позиції -78 стартового кодону екзону I використовували олигонуклеотиди: GTA TAG TGG GAT GGG GTT GG; TTA CGC TCC CAT TCA GAA GC [5]. Ампліфікацію проводили у програнованому термоциклері MiniAmp (Thermo Fisher Scientific, США) у реакційній суміші об'ємом 10 μ L з концентрацією праймерів 0,2 мкМ за програмою: початкова стадія денатурації (95 °C протягом 2 хв), 30 циклів ампліфікації (денатурація при 95 °C протягом 30 с, відпал при 60 °C протягом 30 с і елонгація при 72 °C протягом 30 с), кінцева стадія подовження (при 72 °C протягом 5 хв). Продукт ампліфікації обробляли ендонуклеазою рестрикції *Bst*UI згідно з вимогами виробника (Thermo Scientific, США). Рестрикційні фрагменти розділяли у 2,0% агарозному гелі з додаванням бромистого етидію (Sigma-Aldrich, США). Розмір ампліфікованих фрагментів гена GH (SNP с.-78 С>Т) визначали за використання маркера молекулярних мас 50 bp DNA Ladder (Thermo Scientific, США).

Генетико-популяційні параметри дослідної групи кролів аналізували методом оцінювання частот генотипів і алелів, рівня очікуваної (He) і фактичної (Ho) гетерозиготностей, фактичного (O) і теоретичного (E) розподілу генотипів, величини індексу фіксації Райта та відповідності розподілу генотипів стану рівноваги за

Харді — Вайнбергом. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програмного забезпечення GENALEX 6.5 та Microsoft Excel 2019 [16].

Результати досліджень. Встановлено наявність *Bst*UI-поліморфізму (с.-78С>Т) у локусі гена гормону росту в позиції -78 відносно стартового кодону екзону I. Цей поліморфізм представлений алелями С і Т, що визначають генотипи СС, СТ та ТТ. Рестрикційний аналіз із використанням *Bst*UI підтвердив наявність цього поліморфізму, що узгоджується з даними GenBank (HE646284.1) та літературними джерелами [4]. В ампліконі виявлено один сайт рестрикції *Bst*UI, наявність якого відповідає алелю С, а його відсутність — алелю Т.

Розмір амплікону становив 231 п.н. Генотип СС представлений на електрофореграмі фрагментами 169 і 62 п.н., генотип ТТ — фрагментом 231 п.н., а генотип СТ — фрагментами 231, 169, 62 п.н. (рис. 1). Для обох популяцій відмічено превалювання частоти алелю С над Т, що у випадку з породою кролів полтавське срібло є менш вираженим (0,51 проти 0,48) порівняно із породою шиншила (0,6 проти 0,4).

Отримані дані співставні з результатами, одержаними дослідниками на інших популяціях кролів. Так, вища частота алеля С була зафіксована у дослідженні популяції новозеландських білих кролів [17].

Аналогічні результати було отримано під час дослідження каліфорнійських порід кролів [11]: частоти алелів С та Т становили 0,625 та 0,375 відповідно. Натомість, у кролів породи картатий велетень [4] спостерігали протилежну тенденцію — частота алеля Т (0,594) перевищувала частоту алеля С (0,406). Подібні результати отримано під час дослідження лінії APR1 [18]: частоти алелів Т та С становили 0,540 і 0,460 відповідно.

У результаті нашого дослідження встановлено частоти генотипів за SNP с.-78С>Т у локусі гена GH: у кролів породи шиншила — 0,300 (СС), 0,530 (СТ) та 0,170 (ТТ); у полтавського срібла — 0,211 (СС), 0,605 (СТ) та 0,170 (ТТ). В обох

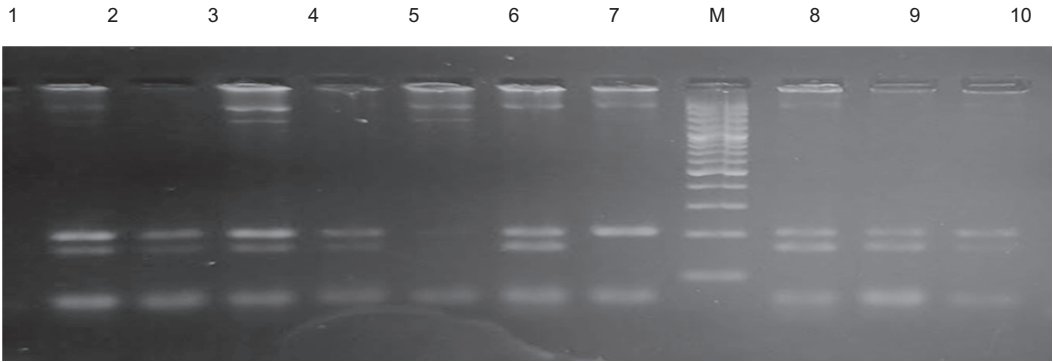


Рис. 1. Електрофореграма продуктів рестрикції фрагмента гена гормону росту кролів породи шиншила: 1–4, 6, 8, 9 – гетерозиготи СТ; 7, 10 – гомозиготи СС

популяціях переважали гетерозиготи СТ (понад 50%). Частоти гомозигот СС та ТТ були дещо вищими у шиншилах. Це свідчить про високий рівень генетичної мінливості за цим маркером в обох популяціях. Висока гетерозиготність може бути зумовлена тривалою ізоляцією та ефективною селекційною роботою. Статистично значущі відмінності між породами за частотами генотипів СС та ТТ ($p < 0,05$) вказують на можливий вплив селекції на цей локус.

Аналіз розподілу генотипів у популяціях кролів порід шиншила та полтавське срібло за критерієм χ^2 не виявив статистично значущих відхилень фактичної гетерозиготності від очікуваної за законом Харді — Вайнберга (таблиця). Це є свідченням того, що обидві популяції перебувають у стані генетичної рівноваги, тобто в них відсутні такі активні процеси, як мутації та дрейф генів, які б суттєво змінювали їхню генетичну структуру.

Аналіз генетичної структури популяції кролів порід шиншила і полтавське срібло показав, що фактична гетерозиготність

(H_o) суттєво перевищує очікуване значення (H_e) в обох випадках (рис. 2).

Розподіл генотипів демонструє від'ємні значення індексу фіксації ($F_{is} = -0,31$ для шиншила та $F_{is} = -1,31$ для полтавського срібла), що вказує на надлишок гетерозигот в обох популяціях. Попри це, обидві популяції демонструють відповідність розподілу генотипів очікуваному за законом Харді — Вайнберга, що свідчить про відсутність інтенсивного інбридингу та сприяє збереженню високого рівня генетичного різноманіття. Надлишок гетерозигот може підвищувати адаптивність популяцій до змін умов середовища. Слід зазначити, що цей аналіз ґрунтується на припущенні про відсутність інших факторів, що могли б вплинути на генетичну структуру популяцій, та враховує відносно невеликі розміри вибірок. Кількість ефективних алелів (n_e) у дослідженому локусі досягає майже максимального значення для двоалельної системи — становить 1,91 у шиншила та 2,04 у полтавського срібла.

Відповідність розподілу частот генотипів за локусом GH (с.–78С>Т) стану генетичної рівноваги у дослідній популяції кролів

Популяційно-генетичні параметри	Шиншила			Полтавське срібло		
	СС	СТ	ТТ	СС	СТ	ТТ
Фактична гетерозиготність (O)	26	57	17	21	60	18
Очікувана гетерозиготність (E)	30,2	49,2	20,2	26,3	49,9	23,7
$(O - E)^2/E$	0,58	1,23	0,51	1,07	2,04	1,37
χ^2	2,32, $p > 0,01$			4,48, $p > 0,05$		

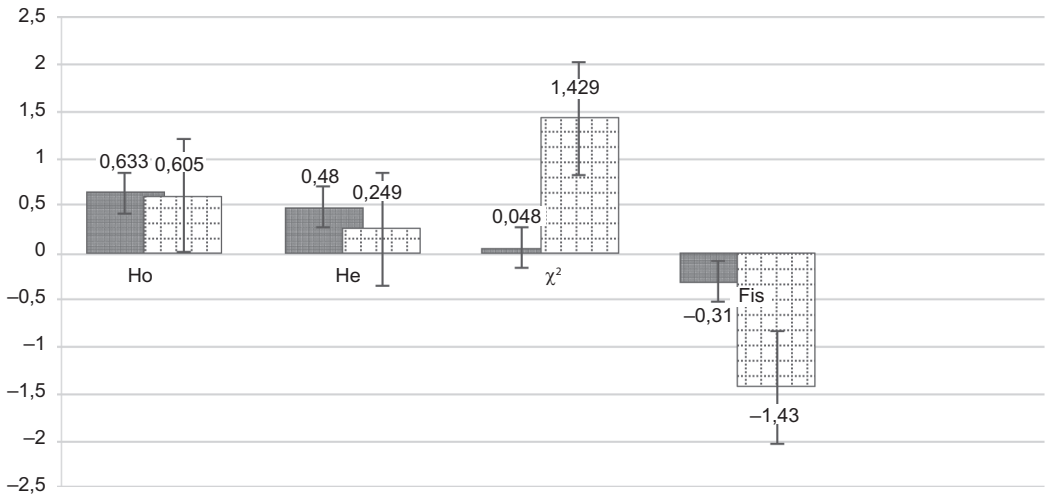


Рис. 2. Фактична гетерозиготність (Ho), очікувана гетерозиготність (He) та індекс фіксації Райта (Fis) у популяціях кролів порід шиншила (■) і полтавське срібло (▨)

Це дослідження є початковим етапом запланованої роботи з вивчення однонуклеотидного поліморфізму генів, асоційованих із репродуктивними та продуктивними ознаками кролів. Відбір генів та їхніх ділянок для аналізу однонуклеотидних замін

здійснювали з огляду на значення цих генів для практичного кролівництва. Такий підхід забезпечує не лише наукову новизну, а й практичну значущість дослідження, оскільки його результати можуть бути оперативно впроваджені в селекційні програми.

Висновки

У досліджених популяціях кролів порід шиншила та полтавське срібло виявлено *Bst*UI-поліморфізм (с.-78C>T) в локусі гена GH, що локалізується в позиції -78 відносно стартового кодону екзону I. Найбільшу частоту мав гетерозиготний генотип СТ: 0,570 у шиншилі і 0,605 у полтавського срібла. Гомозиготний генотип ТТ з частотами 0,17 і 0,18 відповідно був

найменш поширеним. Частоти алелів С та Т у популяції шиншилі становили 0,60 і 0,51, а у полтавського срібла — 0,51 і 0,48 відповідно. Отримані дані щодо розподілу генотипів гена GH відкривають перспективи для подальшого вивчення зв'язку між генетичними варіантами гена гормону росту та продуктивними якостями цих тварин.

Dzitsiuk V.¹, Boiko O.², Honchar O.³, Havrysh O.⁴, Huzevatyi O.⁵

¹M.V. Zubets Institute of Animal Breeding and Genetics of NAAS, 1 Pohrebniaka Str., vil. Chubynske, Boryspil district, Kyiv oblast, 08321, Ukraine; ²⁻⁴Cherkasy Experimental Station of Bioresources of NAAS, 76 Pasterivska Str., Cherkasy, 18036, Ukraine; ⁵M.F. Ivanov Institute of Animal Husbandry of Steppe Regions «Askaniya-Nova» — the National Scientific Breeding and Genetic Center for Sheep Breeding of NAAS, 1 Pohrebniaka Str., vil. Chubynske, Boryspil district, Kyiv oblast, 08321, Ukraine; e-mail:

¹valentynadzitsiuk@gmail.com, ²aleksboy18@meta.ua, ³of.gonchar@gmail.com, ⁴gavrish.ofexandr@gmail.com, ⁵oleg_guzevaty@ukr.net; ORCID: ¹0000-0001-9697-4165, ²0000-0002-3917-5583, ³0000-0003-2269-9767, ⁴0000-0002-8632-6508, ⁵0000-0002-2470-5430

Growth hormone gene polymorphism in Chinchilla and Poltava silver rabbit populations

Goal. To study the genetic structure of the rabbit population based on the polymorphism of the growth hormone (GH) gene locus, and to

determine allelic and genotypic variants based on the marker mutation c.78C>T. **Methods.** The study was conducted on Chinchilla and Poltava silver rabbit populations. Genotyping was performed by polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR–RFLP) and subsequent restriction analysis. DNA was isolated from individual whole blood samples. Amplification was performed in a MiniAmp programmable thermal cycler (Thermo Fisher Scientific) using specific primers. Amplification products were treated with BstUI restriction endonuclease. Restriction fragments were separated in a 2.0% agarose gel with the addition of ethidium bromide. Based on the obtained data, the actual (O) and theoretical distribution of genotypes (E), genotype and allele frequencies, actual (Ho), and expected (He) heterozygosity were calculated in accordance with generally accepted methods. Statistical data processing was performed using GENALEX 6.5 software and Microsoft Excel 2019. **Results.** A BstUI-polymorphism was detected at position -78 of the start codon of exon I (c.C>T). In the studied rabbit breeds, the heterozygous genotype ST

prevailed with a frequency of 0.570 in Chinchilla and 0.605 in Poltava silver. The homozygous genotype TT occurred least often — with a frequency of 0.17 and 0.18, respectively. The frequency of the C allele was 0.60, and the T allele — 0.51 in the population of Chinchilla rabbits; in Poltava silver, the frequencies of these alleles were at levels of 0.51 and 0.48, respectively. The results of the study showed that both experimental populations by the GH locus were in the state of genetic equilibrium according to Hardy-Weinberg, which indicated the absence of microevolutionary changes in the process of their reproduction. **Conclusions.** The features of the distribution of individuals according to different genotypes of the GH gene in rabbit populations of both breeds, revealed in this study, justified the need for further studies to establish an associative relationship between allelic variants of the growth hormone gene and quantitative and qualitative indicators of productivity of this type of farm animals.

Key words: polymorphism, GH gene, allele, genotype, rabbits.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202501-05>

Бібліографія

1. Ragab M., Elkhaiaf I, Younis H. et al. Genotype by heat conditions interaction effects on growth and litter traits in rabbits. *Front Vet Sci.* 2022. V. 22. Is. 9. P. 1–9. doi: 10.3389/fvets.2022.1018625
2. El-Sabrouf K., Aggag S, de Souza JBF Jr. Some recent applications of rabbit biotechnology — a review. *Anim. Biotechnol.* 2020. V. 31. P. 76–80. doi: 10.1080/10495398.2018.1539005
3. Safaa H.M., Ragab M., Ahmed M. et al. Influence of polymorphisms in candidate genes on carcass and meat quality traits in rabbits. *PLoS One.* 2023. V. 18. Is. 11. e0294051. doi: 10.1371/journal.pone.0294051
4. Fontanesi L., Dall'Olio S., Spaccapaniccia E. et al. A single nucleotide polymorphism in the rabbit growth hormone (GH1) gene is associated with market weight in a commercial rabbit population. *Livest. Sci.* 2012. Is.147. P. 84–88. doi: 10.1016/j.livsci.2012.04.006
5. Wallis O.C., Wallis M. Cloning and characterization of the rabbit growth hormone-encoding gene. *Gene.* 1995. V. 163. N 2. P. 253–256. doi: 10.1016/0378-1119(95)00429-A.)15
6. Akçay A., Daldaban F., Çelik E. et al. Meta analysis of allele and genotype frequency of growth hormone (bGH) gene *Alul* polymorphism, which is effective on milk yield in Holstein cattle. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2020. V. 26. Is. 5. P. 687–695. doi: 10.9775/kvfd.2020.24256
7. Dzitsiuk V.V., Guzevatij O.J. Polymorphism of the Growth Hormone Gene (G.2141C>G) in Cattle Populations: Analysis of Reproductive Traits. *Cytology and Genetics.* 2024. Is. 3. P. 225–233. doi: 10.3103/S0095452724030046
8. Buranakarl C., Chamsuwan S., Thammarachoen S. et al. Single-Nucleotide Polymorphisms of Growth Hormone Gene and Its Relationship with Growth Traits in Black Bengal Goats. *Animals.* 2024. V. 14. Is. 6. P. 834. doi: 10.3390/ani14060834
9. Kumar S., Yadav A.S., Magotra A. et al. Polymorphism of growth hormone (GH) gene and its association with performance and body conformation of Harnali sheep. *Trop. Anim. Health Prod.* 2024. V. 56. P. 116. doi: 10.1007/s11250-024-03968-2
10. Ologbose F.I., Oke U.K., Nwachukwu E.N. et al. Polymorphisms of growth hormones gene and their associations with growth traits of cross-bred pigs in humid tropical environment. *Nigerian J. of Animal Science.* 2020. V. 22. P. 91–100.
11. Amalianingsih T., Brahantiyo B., Jarkaria K. The Variability of Growth hormone

gene associated with ultra soundimaging of Longissimus dorsi muscle and perirenal fat in rabbits. *Media Peternakan*. 2014. P. 1–7. doi: 10.5398/medpet.2014.37.1.1

12. Gencheva D.G., Velikov K.P., Veleva P.M. Association analysis of nucleotide polymorphisms in growth hormone (GH) and its receptor (GHR) with body weight in californian rabbits. *World Rabbit Sci.* 2022. V. 30. P. 95–102. doi: 10.4995/wrs.2022.13127

13. Migdał Ł., Patka S., Kmiecik M., Derewicka O. Association of polymorphisms in the GH and GHR genes with growth and carcass traits in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Czech J. Anim. Sci.* 2019. V. 64. Is. 6. P. 255–264. doi: 10.17221/27/2019-CJAS

14. Gencheva D., Tanchev S.G., Velikov K. et al. Single nucleotide polymorphism of the growth hormone (GH) encoding gene in inbred and outbred domestic rabbits. *World Rabbit Sci.* 2018. V. 26. P. 49. doi: 10.4995/wrs.2018.7211

15. Gencheva D.G., Velikov K.P., Veleva P.M. Association analysis of nucleotide polymorphisms in growth hormone (GH) and its receptor (GHR) with body weight in californian rabbits. *World Rabbit Sci.* 2022. V. 30. P. 95–102. doi: 10.4995/wrs.2022.13127

16. Smouse P.E., Banks S.C., Peakall R. Converting quadratic entropy to diversity: Both animals and alleles are diverse, but some are more diverse than others. *PLOS ONE*. 2017. V. 12. e0185499. doi.org/10.1371/journal.pone.0185499

17. Hristova T., Tanchev S., Velikov K. et al. Rabbit Growth Hormone and Myostatin Gene Polymorphisms. *J. Agri. Res.* 2017. V. 2(3). 000133. doi: 10.10.23880/oajar-16000133

18. Hussein B., Abdel-Kafy E.M., Abdel-Ghany S.M. et al. Single nucleotide polymorphism in growth hormone gene are associated with some performance traits in rabbit. *Int. J. Biol. Pharm. Allied Sci.* 2015. Is. 4. P. 490–504. doi: 10.4995/wrs.2018.7211