

ISSN 1330-7142
UDK = 636.473:636.082(043)

potencijalne križance između nje i komercijalnih pasmina svinja te divlje svinje.

GENETSKA ANALIZA CRNE SLAVONSKE SVINJE

Mr.sc. Vladimir Margeta ⁽¹⁾

Disertacija ⁽²⁾

U istraživanju je korišteno 18 parova mikrosatelitnih početnica, kako bi se utvrdila genetska struktura i povezanost unutar populacije crne slavonske svinja te između populacija turopoljske svinje, mangulice i divlje svinje. Drugi cilj ovog istraživanja bio je utvrditi filogenetski status istraživanih populacija te njihovu filogenetsku povezanost s nekim europskim i azijskim svinjama pomoću polimorfizma u D-loop sekvenci mitohondrijske DNA. Treći cilj bio je utvrditi MC1R genotip kod crne slavonske svinje i pronaći učinkovitu i jednostavnu PCR-RFLP metodu, koja se temelji na razlikama u MC1R genotipu, a pomoću koje će se moći izdvojiti čista crna slavonska svinja od križanaca s komercijalnim pasminama svinja te od divlje svinje. Za mikrosatelitnu analizu svaka životinja genotipizirana je s 18 mikrosatelitnih markera, odabranih na temelju njihove kvalitete, veličine, polimorfizma i lokacije u genomu svinje, kako je preporučeno od FAO-a. Za umnožavanje kontrolne regije mtDNA u dužini od 511 bp, između pozicije 15.390 i 15.900, korištene su početnice Mit1.F i Mit1.R, a za umnožavanje kontrolne regije mtDNA u dužini od 810 bp, između pozicije 15.825 i 16.634, korištene su početnice Mit2.F i Mit2.R. Za umnožavanje exona MC1R gena korištena su dva para početnica. Prvi par početnica, MERL1 i EPIG2, korišten je za umnožavanje 428 bp dugoga fragmenta 5' kraja eksona, dok su EPIG1 i EPIG3 početnice korištene za umnožavanje 405 bp dugoga produkta s 3' kraja eksona. Dobiveni rezultati pokazuju da je set od 18 mikrosatelitnih markera korištenih u istraživanju vrlo koristan alat za utvrđivanje genetske različitosti unutar crne slavonske svinje, kao i za identifikaciju pojedinih životinja te genetske studije, u svrhu selekcije i očuvanja crne slavonske, turopoljske svinje i mangulice. Genetska udaljenost utvrđena metodom analize glavnih komponenti (PCA) ukazuje da su ispitivane pasmine u najvećoj mjeri genetski jasno definirane. Analiza mtDNA pokazala je da crna slavonska svinja i turopoljska svinja pokazuju jasnu genetsku distanciranost od drugih europskih i nekih azijskih svinja, jer se na dendogramu grupiraju u bliske skupine. Prisutnost mangulice u klasteru objašnjava se činjenicom da je ona sudjelovala u nastanku crne slavonske svinje. Također, ovim smo radom uspjeli utvrditi jednostavnu PCR-RFLP metodu, temeljenu na različitim MC1R genotipovima za boju dlake, pomoću koje je moguće detektirati čistu crnu slavonsku svinju i

Ključne riječi: crna slavonska svinja, genetski status, mikrosateliti, mitohondrijska DNA, MC1R gen

GENETIC ANALYSIS OF BLACK SLAVONIAN PIG

Doctoral thesis

Pairs (18) of microsatellite primers were used in this study to detect the genetic relationship within Black Slavonian Pig and between Turopolje Pig, Mangalitsa breed and Croatian Wild Pigs. The second goal of this study was to determine phylogenetic relationships among these breeds and some Asian and European pigs using the mtDNA D-loop sequence polymorphism. The third goal was to determine the MC1R genotype of Black Slavonian pigs and to find an efficient and simple PCR-RFLP method, based on differences in MC1R genotype, to distinguish between purebred Black Slavonian pigs and their crossings with commercial pig breeds and Wild Boars. Aiming to conduct microsatellite analysis each animal was genotyped for 18 microsatellite markers, chosen based on their quality, size, polymorphism and location on the porcine genome as proposed by the FAO. Two pairs of primers amplified a 511-bp fragment of control region between sites 15 390 and 15 900 (Mit1.F and Mit1.R) and a 810-bp fragment between sites 15 825 and 16 634 (Mit2.F and Mi2.R) were genotyped for mtDNA. Two primer pairs were used to amplify the majority of the single exon of MC1R gene aiming to determine MC1R genotype of Black Slavonian pig. The first pair of primers, MERL1 and EPIG2, was used to amplify a 428-bp product from the 5' half of the exon, whereas EPIG1 and EPIG3 amplified a 405-bp product from the 3' half. Our results showed that the 18 microsatellites used in this study were useful

(1) Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku/J.J. Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agriculture in Osijek, Kralja Petra Svačića 1d, Osijek (vmargeta@pfos.hr)

(2) Disertacija je obranjena na Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera, Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku 10. svibnja 2012. godine/Doctoral thesis was defended at J.J. Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agriculture on 10th May 2012

markers to study genetic diversity among Croatian autochthonous pig breeds. This set of microsatellites may be used for identifying individuals and for genetic diversity studies for selection and conservation of the Black Slavonian pig, Turopolje pig and Mangalitza breed. Genetic distances between populations made with Principal Component Analysis (PCA) method noticed that studied populations are mostly clearly genetically defined. mtDNA analysis suggested that Black Slavonian and Turopolje pig showed genetic distances from the other European and Chinese pig breeds. Black Slavonian and Turopolje pig clustered together. Mangalitza was used in the development of Black Slavonian pig and this can explain their presence in clustering. Also, with this work, we were able to identify a simple PCR-RFLP method, based on different coat color *MC1R* gene genotypes, by which it is possible to detect potential crossings of autochthonous Black Slavonian pig with commercial pig breeds and including wild boars.

Key-words: Black Slavonian pig, genetic status, microsatellites, mitochondrial DNA, *MC1R* gene