

**POLIMORFIZAM PRLR-GENA U KRMAČA CRNE SLAVONSKE PASMINE SVINJA:
PRELIMINARNI REZULTATI****A. Brkić, S. Menčik, Eleonora Bačani, Anamaria Ekert Kabalin****Sažetak**

Crna slavonska svinja, nekada vrlo cijenjena i gotovo jedina pasmina u Slavoniji, danas postoji u relativno maloj populaciji. Skromnih prohtjeva u hranidbi i smještaju, namjenjena je uzgoju na otvorenom. Prasi 6-8 odojaka u leglu, i prema tome pripada u srednje plodne pasmine svinja. Odlikuje se visokom kvalitetom mesa, namjenjenom preradi u tradicijske suhomesnate proizvode. Zbog svojih kvaliteta predstavlja prioritet u proučavanju i očuvanju jedinstvenog genetskog potencijala. Cilj ovog preliminarnog istraživanja bio je izolirati DNA iz folikula dlake 15 krmača crne slavonske pasmine svinja, provesti genotipizaciju polimorfizma prolaktinskog receptora (PRLR-gena) te utvrditi eventualnu povezanost pojedinih genotipova sa reproduktivnim pokazateljima. Navedeno bi moglo pridonijeti unaprjeđenju selekcije plotkinja, koja se dosad zasnivala na fenotipskim pokazateljima. Nakon provedene izolacije DNA i umnažanja odsječaka PRLR, dobiveni PCR produkti podvrgnuti su djelovanju restriktijskog enzima *AluI*, u svrhu utvrđivanja polimorfizma PRLR-gena. Dobivena je jednaka raspodjela AA (40%) i BB (40%) homozigota, dok su AB heterozigoti bili manje zastupljeni (20%). Najveći broj ukupno oprasjenih kao i živooprasjenih odojaka imale su krmače AB genotipa, dok je kod BB homozigota zabilježena veća varijabilnost u veličini legla. Unatoč utvrđenim razlikama u veličini legla pojedinog genotipa, one nisu bile statistički značajne.

Ključne riječi: crna slavonska svinja, PRLR-gen, PCR, *AluI*, DNA

Uvod

Prema pretpostavkama Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (engl. *Food and Agriculture Organisation*, FAO), ugroženo je više od 30% pasmina domaćih životinja, a najviše u razvijenim dijelovima svijeta, gdje visokoproduktivne pasmine potiskuju autohtone. Osim zbog povećanja proizvodnosti, autohtone pasmine su ugrožene i intenzivnim pristupom stočarstvu te pretapanjem populacija. Unatoč želji za napretkom i sve većom dobiti, u drugoj polovici 20. stoljeća spoznalo se da je gubitak svake pasmine nepovratno i neprocjenjivo osiromašenje pojedinog kraja, ali i općenito cijelog planeta. Svaka pasmina ima svoju jedinstvenu i neponovljivu kombinaciju gena u kojoj su sakupljena brojna stoljeća borbe sa prirodnim uvjetima, kao i čovjekov usmjeren selekcijski rad (Ivanković, 2005.). Tako je, uslijed napretka svinjogojstva, gotovo potisnuta crna slavonska pasmina svinja, nekad nezaobilazna pasmina u torovima i na pašnjacima slavonske ravnice. Danas je očuvana zahvaljujući tek manjem broju ljudi koji su znali cijeniti skromnost ove pasmine, ali i vrijednost koju ona ima. Uslijed intenziviranja stočarske proizvodnje i stroge selekcije na plodnost, prirast i konverziju hrane, skoro su nepovratno izgubljena svojstva otpornosti, dugovječnosti, mirnog temperamenta, iskorištavanja hrane iz prirode i sl. Crna slavonska svinja jedina je naša izvorna pasmina svinja stvorena planskim križanjem, s ciljem unaprjeđenja brzine rasta i razvitka, plodnosti, otpornosti te kakvoće mesa (Horvath, 1996.; Posavi i sur., 2003. i 2004.; Uremović, 2004.; Barać i sur., 2011.; HPA, 2013.). Brojno stanje crne slavonske svinje značajno se popravilo u zadnjih desetak godina, pa je tako 2001. godine umatičeno tek 26 nerastova i 237 krmača, a 2012. godine 125 nerastova i 950 krmača (HPA, 2013.).

Antun Brkić, DMV; Eleonora Bačani, studenti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
Dr. sc. Sven Menčik, DMV; izv. prof. dr. sc. Anamaria Ekert Kabalin; Zavod za stočarstvo Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska; e-mail: akabalin@vef.hr.

Selekcija svinja je unazad nekoliko godina bila zasnovana na fenotipskom očitovanju pojedinih obilježja životinje, odnosno njezinih daljnjih ili bližih srodnika. Zahvaljujući razvoju znanosti i tehnologije, tijekom zadnjih dvadesetak godina počele su se koristiti molekularno-genetske metode u selekciji svinja (Ivanković, 2005.; Ekert Kabalin i sur., 2008.). Prednost ovih metoda je u tome što se uzgojne jedinice mogu odabrati već u ranoj životnoj dobi, neovisno o spolu, konstituciji, fiziološkom statusu te prije nego se ekonomski bitna svojstva ispolje (Ivanković, 2005.). Uzgojno-seleksijski rad upotpunjen upotrebom genetskih markera svoju prednost očituje naročito kod svojstava koje je teško izravno odrediti, kao što su veličina legla i kakvoća mesa u mladim životinjama. Primjenom ovih metoda dakle, može se već kod vrlo mladih jedinki oba spola procijeniti kako bi se navedena svojstva mogla očitovati (Kralik i sur., 2007.). Spötter i Distl (2006.) pišu o dvije prednosti selekcije upotrebom genetskih markera. Prva je da se skraćuje generacijski interval odabirom poželjnih jedinki već kod rođenja. Druga je unaprjeđenje istraživanih svojstava pojačanom ekspresijom poželjnih gena za vrijeme selekcije. Tijekom vremena usavršene su brze laboratorijske metode odnosno dijagnostički testovi za važna proizvodna svojstva. Tako su testovi za svinje razvijeni za lokuse koji su u vezi sa rastom (MC4R), kvalitetom mesa i osjetljivošću na stres (RN, RYR1, FABP4), plodnošću (PRLR, ESR, FSHB), otpornošću (FUT1), konverzijom hrane (MC4R), bojom kože (MC1R) i drugim svojstvima (Schwerin, 2004.; Ivanković, 2005.).

Kako navode Goffin i Kelly (2012.) receptor za prolaktin (PRLR) otkriven je još početkom 1970-ih godina i to najprije u jetri, vimenu i reproduktivnim organima sisavaca, a kasnije u mnogim drugim tkivima svih kralježnjaka, uključujući i ribe. Bole-Feysott i sur. (1998.) navode preko 300 funkcija molekula aktiviranih sa PRLR. Daljnjim širenjem spoznaja o polimorfizmu PRLR lokusa (dva alela, A i B), PRLR-gen postaje kandidatni gen za veličinu legla kod svinja (Vincent i sur., 1998.). Jedna od uloga PRLR-a je održavanje bređosti. Naime, interakcija estrogena i prolaktina uvjetuje preusmjerenje luteolitičkog prostaglandina (PGF 2α) iz endokrinog hormonalnog sustava u tkivo i krvožilni sustav endometrija, odnosno u egzokrini dio, prema lumenu maternice. Posljedično tome, PGF 2α , je odvojen u lumenu maternice te kao takav ne može ispoljiti svoj luteolitički učinak. Vincent i sur. (1998.) ističu kako je polimorfizam PRLR-gena povezan sa razlikama u veličini legla no, prema dosadašnjim istraživanjima, nije utvrđena istoznačna povezanost određenog alela sa povećanim brojem ukupno oprasanih odojaka u krmača, iz čega se uočava važnost daljnjih istraživanja povezanosti pojedinih kandidatnih gena s ovim poligenkim svojstvima.

S obzirom na ranije navedeno, ciljevi ovog istraživanja su: provesti izolaciju DNA iz folikula dlake u dovoljnoj količini i koncentraciji za daljnje analize te tako neinvazivnom metodom dobiti uvid u mogućnost utvrđivanja genotipskog polimorfizma prolaktinskog receptora krmača crne slavonske pasmine svinja i njegove eventualne povezanosti sa reproduktivnim pokazateljima.

Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na 15 krmača crne slavonske pasmine, od kojih su za potrebe istraživanja uzeti uzorci dlake sa folikulima. Krmače su uzgajane na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima, u podjednakim zootehničkim uvjetima poluekstenzivnog uzgoja i hranidbe. Prikupljeni podaci o reprodukciji obuhvaćali su: redni broj prasenja, broj oprasanih odojaka (ukupno oprasanih, živooprasanih i mrtvooprasanih), kao i broj odbijene prasadi. Podaci o proizvodnji krmača dobiveni su iz reproduksijskih kartica koje je ustupila Hrvatska poljoprivredna agencija te su uključivali ukupno 62 legla. Za svaku višepraskinju u analizu je uključen dosadašnji prosječni proizvodni rezultat.

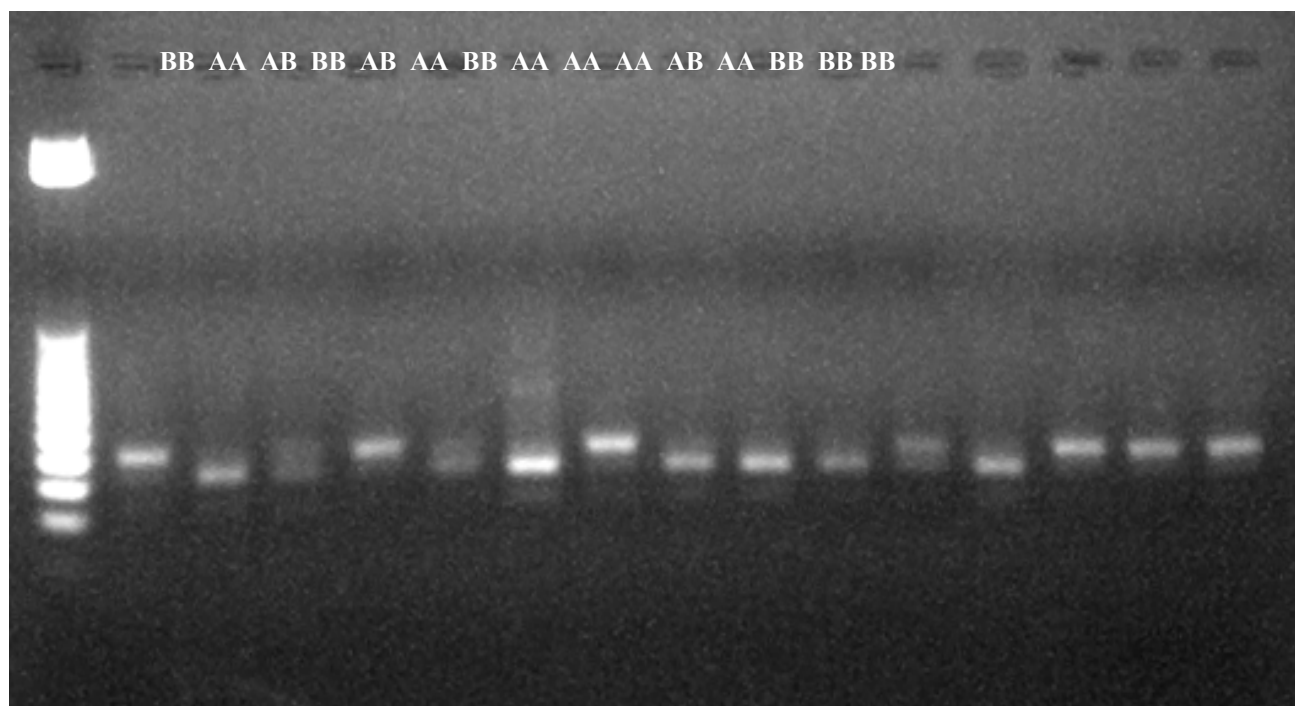
Uzorci dlake uzeti su sterilnom pincetom u epruvete, pohranjeni na +4 °C. Za izolaciju DNA iz folikula dlake korišten je komercijalni kit *One-tube Hair DNA Extraction Kit* (Bio Basic Inc., Markham Ontario, L3R 8T4 Canada). Izolacija DNA provedena je prema uputama proizvođača, u fizički odvojenoj prostoriji, korištenjem sterilnog pribora, kako bi moguća kontaminacija uzorka bila svedena na minimum. Nakon izolacije DNA, umnožen je traženi odsječak gena za PRLR (eng. *Prolactin receptor*), upotrebom lančane reakcije polimerazom (eng. *Polymerase chain reaction*, PCR), koristeći uređaj za termocikliranje Mastercycler® personal 5332 (Eppendorf AG, Hamburg, Njemačka). Za umnažanje ciljanih odsječaka duljine 163 pb koriste su početnice opisane u radu Drogemüller-a i sur. (2001.). Sastav reakcijske smjese za umnažanje ciljnog odsječaka DNA (ukupnog volumena 25 µL) bio je: 5 µL (1x) PCR pufera, 1,5 µL (1,5 mM) MgCl₂, 2,5 µL (200 nM) dNTP mješavine, po 2,5 µL (500 nM) prednje (PRLR3) i stražnje (PRLR4) specifične početnice, 0,22 µL (1 U po reakciji) *Taq* polimeraze, 5,78 µL deionizirane vode te 5 µL uzorka DNA. Umnažanje je provedeno prema slijedećim uvjetima: aktivacija *Taq* polimeraze i početna denaturacija na 94 °C kroz 4 minute, 35 ciklusa koji su uključivali denaturaciju kalupa (94 °C / 30 sekundi), prihvaćanje početnica (55 °C / 1 minuta) i produljenje lanaca (72 °C / 30 sekundi), potom završno produljenje lanaca na 72 °C kroz 30 sekundi te hlađenje na 4 °C. Da bi utvrdili polimorfizam odsječaka PRLR-gena pojedinih uzoraka, dobiveni PCR produkti izloženi smo djelovanju restriksijske endonukleaze *AluI*. Pomiješano je 10 µL PCR produkta, 0,8 µL *AluI* (10 U/µL), 2 µL pufera B (10x), 0,2 µL acetiliranog goveđeg serumskog albumina (engl. Bovine Serum Albumine - BSA) i 7 µL deionizirane sterilne vode. Navedena smjesa inkubirana je 3 sata na 37 °C u vodenoj kupelji (VK1EN, Inko, Hrvatska). Nakon inkubacije, dobiveni odsječci podvrgnuti su postupku elektroforeze u 3,25%-tnom agaroznom gelu (85 V / 15 minuta; BIO-RAD, PowerPac™ HC-Cleaver Scientific Ltd MSmuni, UK). Po završetku elektroforeze, gel je fotografiran u UV transluminatoru (MiniBisPro®; DNR Bio-Imaging Systems, Jerusalem, Israel). Projekcija elektroforeze obrađena je u računalnom programu GelQuant Express Version 3.1 (DNR, Bio-Imaging Systems, Jerusalem, Israel).

Obrada i analiza podataka provedena je pomoću referentnog programa Statistica v.10 (StatSoft. Inc, 2011.). Podaci su obrađeni uobičajenim postupcima deskriptivne statistike, a normalnost raspodjele provjerena je Kolmogorov-Smirnovim testom. Značajnost razlika u broju ukupnooprasenih i živooprasenih odojaka po leglu između tri promatrana genotipa provjerena je jedno analizom varijance (One-way ANOVA, uz Unequal n Tukey-ev test za post-hoc analizu), dok je neparametrijska Kruskal-Walissova analiza korištena za usporedbu broja mrtvooprasenih po skupinama. Pri tome smo statistički značajnom smatrali razliku na razini $p < 0,05$. Također je izračunata i frekvencija alela i genotipa, a pomoću hi-kvadrat testa je analizirano odstupanje njihovih frekvencija od Hardy-Weinbergove ravnoteže.

Rezultati

Primjenom opisane metode uspješno je izolirana DNA iz svih petnaest uzoraka folikula dlake u dovoljnoj koncentraciji za daljnju analizu. Elektroforezom restriksijskih odsječaka PRLR-gena dobiveni su odsječci različite duljine, ovisno o postojanju restriksijskog mjesta za enzim *AluI*. Homozigotne jedinice genotipa AA karakterizirali su odsječci duljine 85 i 59 pb (odsječak od 19 pb nije bio vidljiv na gelu, u suglasju s nalazom Drogemüllera i sur., 2001.), a homozigotne jedinice genotipa BB dva odsječaka duljine 104 i 59 pb. Kod heterozigotnih jedinica genotipa AB bila su vidljiva tri odsječaka duljine 104, 85 i 59 pb (slika 1).

Slika 1. - DULJINA RESTRIKCIJSKIH ODSJEČAKA PRLR-GENA KOD RAZLIČITIH GENOTIPOVA
 Picture 1 – LENGTH OF RESTRICTION FRAGMENTS IN DIFFERENT PRLR-GENOTYPES



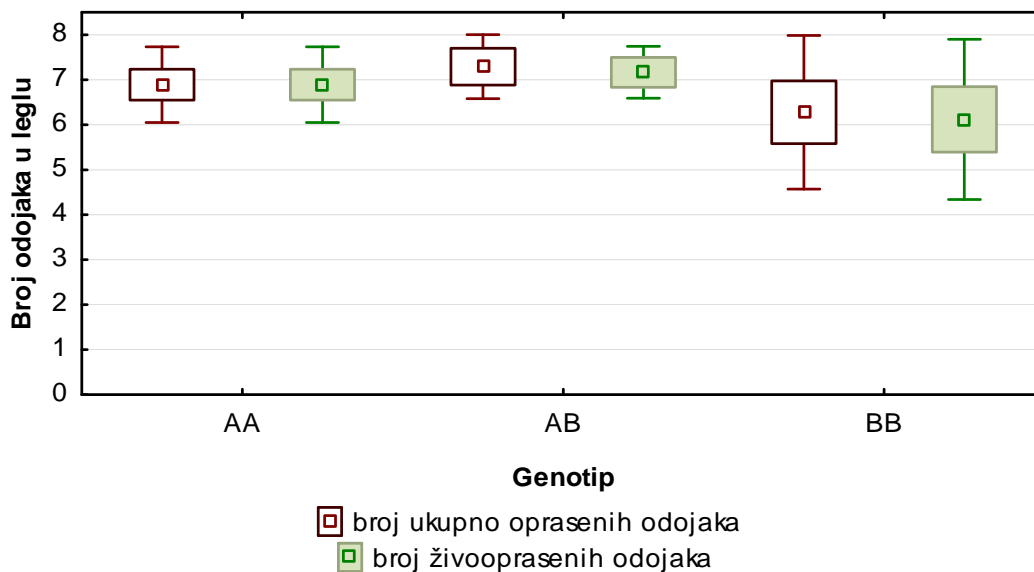
U tablici 1 i na grafikonu 1 prikazana je učestalost pojedinih PRLR-*AluI* genotipova krmača crne slavonske svinje, kao i prosječne vrijednosti reproduktivnih pokazatelja (broj ukupnooprasenih, živooprasenih i mrtvooprasenih odojaka).

Tablica 1. - UDIO PRLR-*AluI* GENOTIPOVA TE PROSJEČNE VRIJEDNOSTI POKAZATELJA VELIČINE LEGLA U KRMAČA CRNE SLAVONSKE PASMINE SVINJA
 Table 1 - PERCENTAGE OF PRLR- *AluI* GENOTYPES AND AVERAGE VALUES OF LITTER SIZE PARAMETERS IN BLACK SLAVONIAN PIGS

PRLR- <i>AluI</i> genotip		AA		AB		BB
Broj krmača (n)		6		3		6
Udio krmača pojedinog genotipa (%)		40%		20%		40%
Broj ukupno oprasenih odojaka	<i>arit.sred. ± SD</i>	6,89 ± 0,84		7,29 ± 0,71		6,28 ± 1,70
	<i>min-maks</i>	5-9		2-9		3-11
	<i>KV</i>	12,18%		9,75%		27,21%
Broj živooprasenih odojaka	<i>arit.sred. ± SD</i>	6,89 ± 0,84		7,17 ± 0,58		6,12 ± 1,78
	<i>min-maks</i>	5-9		2-9		3-11
	<i>KV</i>	12,18%		8,06%		29,09%
Broj mrtvooprasenih odojaka	<i>medijan</i>	0		0		0
	<i>min-maks</i>	-		0-1		0-1

Napomena: nisu utvrđene statistički značajne razlike promatranih svojstava između različitih genotipova ($p > 0,05$)

Grafikon 1. - PROSJEČNI BROJ UKUPNO OPRASENIH I ŽIVOOPRASENIH ODOJAKA PREMA GENOTIPU
 Graph 1 – AVERAGE NUMBER OF TOTAL- AND LIVEBORN PIGLETS ACCORDING TO GENOTYPE



Iz tablice 1 vidljivo je da su u promatranom uzorku zabilježeni jednaki udjeli homozigotnih krmača (40 % svakog), dok je najmanje bilo heterozigota AB (20%). Utvrđene frekvencije alela A i B bile su 0,5 za svakoga. Hi-kvadrat testom utvrđeno je odstupanje od Hardy-Weinbergerove ravnoteže na razini $p < 0,05$. Pretpostavljamo da se navedeno odstupanje djelomice može objasniti relativno malim uzorkom, kao i mogućnošću da su pojedine jedinke bile u nekom stupnju srodstva, što bi također moglo utjecati na zastupljenost gena i genotipova u promatranom uzorku.

Prosječan broj ukupnooprasenih te živooprasenih odojaka bio je najveći kod heterozigotnih krmača (tablica 1, graf 1), dok su najmanje vrijednosti utvrđene u BB homozigota. Samo u pojedinim leglima BB homozigotnih i heterozigotnih krmača bio je do jedan mrtvoopraseni odojak. Nakon provedenog testiranja, nisu utvrđene statistički značajne razlike navedenih pokazatelja između pojedinih PRLR-*AluI* genotipova.

Nadalje, iako je najmanji prosječni broj ukupno oprasenih, kao i živooprasenih odojaka bio u krmača genotipa BB, kod istih je zabilježena najveća vrijednost (11 odojaka u leglu) te je i koeficijent varijabilnosti u navedenoj skupini bio najveći, dok najmanja varijabilnost navedenih svojstava bila je u skupini heterozigota (tablica 1).

Rasprava

S obzirom da dosada nije bilo opsežnijih istraživanja koja obuhvaćaju povezanost pojedinih genskih markera sa reproduktivnim pokazateljima crne slavonske pasmine svinja, osvrnut ćemo se na rezultate drugih autora koji su istraživali ista svojstva kod visokoplodnih, komercijalnih mesnih pasmina i križanaca, a vezano za pojedine PRLR-*AluI* genotipove.

Ono što možemo uzeti u obzir u okviru ove pasmine su službeni rezultati plodnosti krmača crne slavonske svinje, prema godišnjem izvješću HPA za 2012. godinu te rezultatima drugih istraživanja. Prema navedenim podacima, prosječan broj ukupno oprasenih odojaka u leglima crne slavonske svinje iznosio je 6,12, odnosno 5,56 živooprasenih (HPA, 2013.). Senčić i sur., (2001a.) navode kako je prosječni broj ukupno oprasenih odojaka 7,10, odnosno 6,31

živooprasenih, dok se u našem istraživanju broj ukupno oprasenih kretao u rasponu od 6,28 za BB genotip, do 7,29 za AB genotip, a broj živooprasenih od 6,12 za BB do 7,17 za AB genotip. Relativno visok prosječni broj odojaka po leglu krmača obuhvaćenih ovim preliminarnim istraživanjem može se objasniti individualnim pristupom, odnosno ciljanom selekcijom na plodnost promatranih jedinki.

Nadalje, u ovom preliminarnom istraživanju zabilježen je jednak udio homozigota, po 40%, dok je udio heterozigota AB iznosio 20%. U istraživanjima drugih autora navedeni rezultati dosta su varijabilni, zavisno o promatranim populacijama. Tako Omelka i sur. (2008.) pronalaze da je u landras pasmine udio AA homozigota 18,8%, BB homozigota 25,08%, a heterozigota najveća, 56,82%. Slične podatke dobili su i za druge mesne pasmine i hibride. U istraživanju van Rens i sur. (2002.) dobiveni su podaci da je učestalost AA homozigota 33,77%, BB homozigota 19,48%, a AB heterozigota 46,75%. Wang i sur. (2008.) su kod crne pekinške svinje utvrdili najveću učestalost BB homozigota (54,83%), zatim AB heterozigota (39,56%) i tek mali udio AA homozigota (5,61%). Prema istraživanju Drogemüllera i sur. (2001.), udio alela A u pasmina njemački landras, durok i križanaca iznosi 40%, 82%, odnosno 49%, dok je u našem istraživanju ona iznosila 50%. Kao što vidimo iz prikazanih rezultata pojedinih autora, učestalost pojedinih genotipova za PRLR-*AluI* različita je ovisno o pasmini, odnosno liniji ili populaciji (Drogemüller i sur., 2001.).

U dosadašnjim istraživanjima plodnosti krmača na osnovi PRLR-*AluI* genotipa, prikazani su različiti rezultati. Tako Drogemüller i sur. (2001.) u svom istraživanju nalaze da je kod krmača pasmine durok statistički značajna razlika u broju živooprasenih odojaka povezanih uz alel B (0,71 odojak više u leglu). U istom istraživanju uključene su još dvije mesne bijele pasmine, a koje su pokazale veći broj živooprasenih odojaka s obzirom na posjedovanje alela B, iako ne statistički značajno. Međutim, Vincent i sur. (1998.) pišu da su krmače AA homozigoti bijele mesne pasmine imale 0,66 ukupno oprasenih odojaka po leglu više od BB homozigota, odnosno AB heterozigota. Dalje navodi da postoji razlika za više od jednog ukupno oprasenog, odnosno živooprasenog odojka po leglu u homozigotnih krmača, u korist alela A. Omelka i sur. (2008.) u svome radu, kojim je obuhvatio tri mesne pasmine, isto tako iznosi da je najveća plodnost u AA homozigota. Kminec i sur. (2004.) također nalaze da su krmače AA homozigoti mesne bijele pasmine imale najveći broj ukupno oprasenih, odnosno živooprasenih odojaka. U ovom preliminarnom istraživanju najveći broj ukupno oprasenih odojaka ($7,29 \pm 0,71$), kao i živooprasenih ($7,17 \pm 0,58$) zabilježeni su u heterozigotnih krmača. Najširi raspon (3-11), ali i najveću utvrđenu vrijednost broja oprasenih odojaka imale su BB homozigotne jedinice.

Zaključci

Opisana metoda izolacije i umnažanja DNA iz folikula dlake uspješno se može primijeniti kod krmača crne slavonske pasmine, s obzirom na dobivenu količinu i čistoću. Nakon genotipizacije polimorfizma ciljnog odsječka prolaktinskog receptora PCR-RFLP metodom, uz korištenje *AluI* restriksijske endonukleaze, utvrđeno je 6 homozigota AA, 3 heterozigota AB te 6 BB homozigota. Zabilježene razlike u reproduktivnim svojstvima svakog pojedinog genotipa pritom nisu bile statistički značajne. Najveći prosječan broj ukupno oprasenih odojaka imale su heterozigotne krmače, dok je najveća varijabilnost bila kod BB homozigota. Dobiveni rezultati upućuju na važnost daljnjeg istraživanja na većoj populaciji krmača, kako bi bolje upoznali genetsku strukturu jedinki s obzirom na polimorfizam prolaktinskog receptora i njegove povezanosti s reproduktivnim pokazateljima. To bi doprinijelo spoznajama o mogućnosti selekcije plotkinja koja se dosad

zasnivala na fenotipskim obilježjima jedinke i njenih srodnika, a time i očuvanju crne slavonske pasmine svinja.

Napomena

Ovaj rad je izrađen u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta Ministarstva znanosti Republike Hrvatske „Patobiologija prenatalnih, perinatalnih i postnatalnih gubitaka u uzgoju svinja“ (broj 053-0532265-2238).

LITERATURA

1. Barać, Z., L.J. Bedrica, M. Čačić, M. Dražić, M. Dadić, M. Ernoić, M. Fury, Š. Horvath, A. Ivanković, Z. Janječić, N. Kezić, D. Marković, B. Mioč, R. Ozimec, D. Petanjek, F. Poljak, Z. Prpić, M. Sindičić (2011): Zelena knjiga izvornih pasmina hrvatske. Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Državni zavod za zaštitu prirode. Hrvatska poljoprivredna agencija. Nacionalni park Krka. COAST. Republika Hrvatska. p.238-241.
2. Bole-Feysot, C., M. V. Goffin, M. Edery, N. Binart, P. A. Kelly (1998): Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal, transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr. Rev.* 19 (3), 225-268.
3. Drogemüller, C., H. Hamann, O. Distl (2001): Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J. Anim. Sci.* 79, 2565-2570.
4. Ekert Kabalin, A., T. Balenović, V. Sušić, I. Štoković, S. Menčik, Ž. Pavičić (2008): Uloga kvantitativnih genskih biljega u selekciji svinja. *Stočarstvo* 62, 147-155.
5. Goffin V., P. A. Kelly (2012 pristupano): Prolactin receptor www.researchgate.net/Prolactin_receptor/file/d912f5087054452535.pdf [pristupano 1.12.2012.]
6. Horvath, Š. (1996): Hrvatske baštinjene pasmine. Crna slavonska svinja, 1.ed. Pokret prijatelja prirode "Lijepa naša", Zagreb. p.178.
7. Hrvatska poljoprivredna agencija, HPA (2013): Godišnje izvješće za 2012. Svinjogojstvo. Križevci..
8. Hrvatska poljoprivredna agencija, HPA (2013): [http://www.hpa.hr / Odjeli/ Odjel za razvoj svinjogojstva / Izvorne pasmine / tabid / 155 / language / en-US / Default.aspx](http://www.hpa.hr/Odjeli/Odjel_za_razvoj_svinjogojstva/Izvorne_pasmine/tabid/155/language/en-US/Default.aspx) [pristupano 10.1.2013]
9. Ivanković, A. (2005): Uporaba molekularne genetike u animalnoj proizvodnji, *Stočarstvo* 59, 121-144.
10. Kmiec, M., A. Terman (2004): Polymorphism in the PRLR/Alul gene and its effect on litter size in Large White sows. *Ani. Sci. Pap. Rep.* 22, 523-527.
11. Kralik G., G. Kušec, D. Kralik, V. Margeta (2007): Svinjogojstvo biološki i zootehnički principi. Grafika, Osijek. pp. 219-297.
12. Omelka R., M. Martiniakova, D. Peškovičova, M. Bauerova (2008): Associations between Alul polymorphism in the prolactin receptor gene and reproductive traits of slovak large white, white meaty and landrace pigs, *Asian-Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21 (4), 484-488.
13. Posavi, M., M. Ernoić, R. Ozimec, F. Poljak (2003): Enciklopedija hrvatskih domaćih životinja. Katarina Zrinski d.o.o., Varaždin. pp. 153-165.
14. Senčić Đ., Z. Antunović, Z. Andabaka (2001a.): Reproductivna svojstva crne slavonske svinje- ugrožene pasmine. *Poljoprivreda* 7, 39-41.
15. Spötter, A., O. Distl (2006): Genetic approaches to the improvement of fertility traits in the pig, *The Veterinary Journal* 172, 234-247.

16. Schwerin, M. (2004): Stand und Perspektiven der molekularen Genomanalyse in der Tierzucht und -haltung. Züchtungskunde 76, 403-411.
17. Uremović, M. (2004): Crna slavonska pasmina svinja – hrvatska izvorna pasmina. Vukovarsko-srijemska županija.
18. van Rens, B. T. T. M., G. J. Evans, T. van der Lende (2003): Components of litter size in gilts with different prolactin receptor genotypes. Theriogenology 59, 915-926.
19. Vincent A. L., C. K. Tuggle, M. F. Rothschild, G. Evans, T. H. Short, O. I. Southwood, G. S. Plastow (1998): The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. Swine Research Report, 1997. Paper 11.
20. Wang, X., L. Wang, Z. L. Reng, S. Sun (2008): Analysis of PRLR and BF genotypes associated with litter size in Beijing black pig population. Agricultural Sciences in China 7 (11), 1374-1378.

POLYMORPHISM OF PRLR-GENE IN BLACK SLAVONIAN SOWS: PRELIMINARY RESULTS

Summary

Population of Black Slavonian pig, once highly valued and almost the only breed in Slavonia, has significantly decreased over the years. With modest demands of nutrition and housing, they are intended for the breeding in the open. This breed belongs in the middle fertile breed with 6-8 piglets per litter. It is characterized by high quality meat, meant for processing in traditional dried meat products. Research and preservation of this unique genetic potential are priority because of its quality. The aim of this preliminary study was to isolate DNA from hair follicle samples of 15 Black Slavonian sows, to genotype polymorphism of PRLR receptor and evaluate its possible connection with reproductive traits. This could contribute to improvement of selection which previously was based on phenotypic indicators. After DNA isolation and multiplication of PRLR sequence, obtained PCR products were subjected to restriction enzyme *AluI* in order to determine the polymorphism of PRLR-gene. The results have shown even distribution of AA (40%) and BB (40%) homozygotes, while AB heterozygote was less frequent (20%). The largest number of total born and live born piglets was in AB genotype, although the BB homozygotes observed greater variability in litter size. Despite the determined differences in litter size between genotypes they were not statistically significant.

Key words: Black Slavonian pig, PRLR-gene, PCR, *AluI*, DNA

Primljeno: 06.07.2014.