

УДК 636.082

Луговий С.І., кандидат с.-г. наук, доцент
Миколаївський національний аграрний університет**ОЦІНКА ВНУТРІШНЬОПОРОДНОЇ МІНЛИВОСТІ УКРАЇНСЬКОЇ
М'ЯСНОЇ ПОРОДИ СВИНЕЙ ЗА ЛОКУСАМИ МІКРОСАТЕЛІТІВ ДНК**

Наведено результати оцінки внутрішньопородної мінливості популяцій свиней української м'ясної породи, що розводяться в різних племінних заводах, на основі поліморфізму локусів мікросателітів ДНК. Встановлено, що популяції різних племінних заводів характеризуються певною специфічністю алельних профілів. Водночас, спільною характерною особливістю обох популяцій є дефіцит гетерозигот, що є свідченням їх високої генетичної консолідованості.

Ключові слова: свині, українська м'ясна порода, поліморфізм, мікросателіти ДНК.

Постановка проблеми. В даний час в Україні розводять 11 вітчизняних та зарубіжних порід свиней. З них найбільшу питому вагу мають велика біла (74,8%), ландрас (12,8%) та українська м'ясна (3,7%) породи [1].

На сьогодні, як свідчить досвід передових країн світу, невід'ємною складовою частиною розведення тварин є методи молекулярно-генетичного маркування. У свою чергу, одним з найважливіших первинних етапів застосування молекулярно-генетичних маркерів є інвентаризація наявних генетичних ресурсів з урахуванням їх породної та господарської диференціації [2].

Тому, враховуючи важливу роль галузі свинарства в Україні, одним із актуальних завдань сучасності є проведення генетичної експертизи генофонду свиней, зокрема вітчизняного походження.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. В останні роки використання аналізу мікросателітів ДНК (ДНК-МС) при аналізі рівня генетичного різноманіття популяцій свиней інтенсивно запроваджують в країнах пострадянського простору. Зокрема, в Центрі біотехнології та молекулярної діагностики Всеросійського науково-дослідного інституту тваринництва РАСГН (м. Москва, РФ) розроблено тест-систему для проведення ДНК-експертизи свиней [3] на основі поліморфізму мікросателітів ДНК. Т.І. Тихомировою [4] виконано експериментальну апробацію такої системи для характеристики генофонду та встановлення генетичних відмінностей між групами свиней порід ландрас, дюрок, йоркшир і велика біла різного походження, встановлені генеалогічні зв'язки між ними.

Можливість використання мікросателітних профілів у якості критерію оцінки стану та ступеню спорідненості внутрішньопородних популяцій також переконливо доведено Н. А. Зінов'євою зі співавторами [5] в результаті оцінки внеску окремих популяцій в генетичне різноманіття свиней великої білої породи.

В Україні до теперішнього часу з використанням поліморфізму мікросателітів ДНК, головним чином, було вивчено рівень генетичної диференційованості лише популяцій свиней великої білої породи [6, 7]. Така ситуація, безумовно, обумовлює необхідність оцінки генетичної структури й інших порід свиней, які розводяться в Україні.

Мета досліджень – оцінка внутрішньопородної мінливості популяцій свиней української м'ясної породи, що розводяться в різних племінних заводах на основі поліморфізму локусів мікросателітів ДНК.

Матеріали та методи досліджень. Для дослідження нами було використано

дані генетичного поліморфізму 12 локусів мікросателітів (SW24, S0155, SW72, SW951, S0386, S0355, SW240, SW857, SW0101, SW936, SW911 та S0228) двох популяцій свиней української м'ясної породи, які розводяться у племінних заводах «Асканія-Нова» (УМ (А); $n = 52$) та «Таврійські свині» (УМ (С); $n = 71$) Херсонської області. Матеріалом для виділення ДНК були зразки тканини (вушні вищипи) свиней.

Лабораторні дослідження виконувалися в умовах Центру біотехнології та молекулярної діагностики Всеросійського науково-дослідного інституту тваринництва РАСГН.

Виділення ДНК здійснювали шляхом лізису в буфері Кавасаки та перхлоратним методом з модифікаціями, розробленими у Центрі біотехнології та молекулярної діагностики Всеросійського інституту тваринництва РАСГН. Постановку ПЛР проводили згідно «Методических рекомендаций по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве» [8, 9].

Мультиплексний аналіз 12 локусів мікросателітів проводили на генетичному аналізаторі ABI Prism 3130x1. Обробку даних капілярного електрофорезу проводили шляхом переведення довжин фрагментів у числовий вираз на підставі порівняння їх рухливості зі стандартом ДНК.

Весь статистичний аналіз проведений на підставі загальноприйнятих методик [10] з використанням програми GenAlEx v. 6.5 [11].

Результати досліджень. У цілому, тварини української м'ясної породи характеризувалися поліморфізмом всіх 12 вивчених локусів мікросателітів. В середньому кожен локус мав 8,417 алелей (табл. 1).

Таблиця 1. Показники генетичного різноманіття свиней української м'ясної породи за локусами мікросателітів ДНК

Показник	Популяція		В цілому по породі ($n = 123$)
	УМ (С) ($n = 71$)	УМ (А) ($n = 52$)	
Середня кількість алелей на локус, N_a	7,167±0,490	7,000±0,603	8,417±0,743
Ефективна кількість алелей, A_e	3,608±0,253	3,583±0,276	3,830±0,295
Фактична гетерозиготність, H_o	0,672±0,036	0,664±0,033	0,668±0,030
Очікувана гетерозиготність, H_e	0,703±0,026	0,701±0,025	0,718±0,027
Індекс фіксації, F	0,042±0,038	0,046±0,038	0,066±0,030

Причому у кожній із двох популяцій даний показник був нижчим, порівняно з загальним показником по породі. Це є свідченням того, що кожна із популяцій мала свої унікальні («приватні») алелі.

У розрізі популяцій, більш поліморфними виявилися локуси мікросателітів у тварин, що розводяться в племінному заводі «Таврійські свині». Дана популяція характеризувалася як дещо вищими показниками середньої кількості алелей на локус, так і ефективною кількістю алелей. Очевидно, це є наслідком поєднання спадкової основи асканійського та центрального внутрішньопородних типів, яке мало місце при формуванні стада вищеназваного господарства.

Водночас, характерною особливістю як породи в цілому, так і кожної із досліджених популяцій є їх висока інбредованість, про що свідчить дефіцит гетерозигот у них. Дана специфіка є свідченням генетичної консолідованості як породи в цілому так і окремих її складових.

В результаті аналізу частот алелей, у 10 із 12 досліджених локусів були виявлені алелі, частоти яких статистично вірогідно відрізнялися у представників різних популяцій (табл. 2).

Таблиця 2. Частота алелей локусів мікросателітів ДНК у різних популяціях свиней української м'ясної породи

Локус	Алеель	Популяція		В цілому по породі (n = 123)
		УМ (С) (n = 71)	УМ (А) (n = 52)	
SW24	93	0,077±0,022	0,019±0,013*	0,053±0,014
	109	0,239±0,036	0,067±0,025***	0,167±0,024
	113	0,246±0,036	0,096±0,029**	0,183±0,025
	117	0,028±0,014	0,317±0,046***	0,150±0,023
S0155	154	0,013±0,009	0,108±0,031**	0,052±0,014
	158	0,047±0,017	0,245±0,043***	0,127±0,021
	160	0,360±0,039	0,245±0,043*	0,313±0,029
	162	0,233±0,035	0,118±0,032*	0,187±0,025
	166	0,047±0,017	0,000±0,000**	0,028±0,010
S0386	166	0,127±0,027	0,050±0,022*	0,096±0,019
	170	0,007±0,007	0,100±0,030**	0,044±0,013
	174	0,427±0,040	0,230±0,042**	0,348±0,030
	176	0,340±0,039	0,520±0,050**	0,412±0,031
S0355	245	0,397±0,040	0,272±0,046*	0,349±0,031
	251	0,007±0,007	0,141±0,036***	0,059±0,015
	259	0,240±0,035	0,130±0,035*	0,197±0,026
SW240	91	0,020±0,011	0,110±0,035*	0,052±0,015
	93	0,187±0,032	0,012±0,012***	0,125±0,022
	99	0,033±0,015	0,000±0,000*	0,022±0,010
	111	0,027±0,013	0,098±0,033*	0,052±0,015
SW857	139	0,200±0,033	0,082±0,028**	0,153±0,023
	147	0,147±0,029	0,347±0,048***	0,226±0,027
	151	0,053±0,018	0,000±0,000**	0,032±0,011
	153	0,093±0,024	0,010±0,010**	0,060±0,015
S0101	215	0,047±0,017	0,000±0,000**	0,028±0,010
SW936	111	0,236±0,035	0,434±0,048**	0,320±0,030
	117	0,146±0,029	0,028±0,016***	0,096±0,019
SW911	165	0,000±0,000	0,217±0,053***	0,064±0,017
	169	0,387±0,041	0,067±0,032***	0,292±0,032
S0228	256	0,284±0,037	0,173±0,037*	0,238±0,027
	258	0,122±0,027	0,231±0,041*	0,167±0,023

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Найбільше таких алелей (п'ять) було виявлено в локусі S0155. Зокрема, частота алелей S0155¹⁵⁴ та S0155¹⁵⁸ у популяції свиней племзаводу «Асканія-Нова» становила 0,108 та 0,245 відповідно, що перевищує аналогічний показник представників популяції племінного заводу «Таврійські свині» в 8,3 ($p < 0,01$) та 5,2 рази ($p < 0,001$) відповідно.

В локусах SW24, S0386, SW240 та SW857 виявлено по чотири алелі, різниця між популяціями за частотою яких є статистично вірогідною. В локусі S0355 встановлено три таких алелі. В трьох локусах (SW936, SW911 та S0228) виявлено по дві алелі, частоти яких вірогідно відрізняються у двох популяціях, а в локусі S0101 виявлено лише одну таку алель – S0101²¹⁵.

Алелей, різниця між частотами яких у досліджуваних популяціях була б статистично вірогідною, у локусах SW72 та SW951 виявлено не було.

Виявлені специфічні характеристики алельних профілів різних популяцій

української м'ясної породи можуть бути використані в якості маркерних ознак при проведенні ідентифікації племінних (генетичних) ресурсів.

У результаті перевірки відповідності частот генотипів стану генетичної рівноваги Гарді-Вайнберга встановлено, що за локусами SW951, SW857, SW010 та SW936 жодна з досліджених популяцій та порода в цілому не відхиляються від стану генетичної рівноваги (табл. 3).

Таблиця 3. Результати тесту на відповідність генетичній рівновазі Гарді-Вайнберга

Популяція	Локуси МС-ДНК											
	SW24	S0155	SW72	SW951	S0386	S0355	SW240	SW857	SW0101	SW936	SW911	SW022
УМ (С)	ns	ns	***	ns	**	***	ns	ns	ns	ns	***	***
УМ (А)	**	***	*	ns	*	***	**	ns	ns	ns	ns	ns
УМ	***	***	***	ns	***	***	***	ns	ns	ns	***	ns

Примітки: ns – невірогідно; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Водночас, відхилення від стану генетичної рівноваги решти локусів має свою специфіку у кожній із досліджених популяцій. Зокрема, у популяції племінного заводу «Таврійські свині» не встановлено відхилення від стану генетичної рівноваги і по локусам SW24, S0155 та SW240, яка мала місце в популяції племінного заводу «Асканія-Нова». Протилежна ситуація була виявлена стосовно локусів SW911 та SW022.

Імовірно дана специфічність обумовлена особливостями породотворчого процесу при створенні різних внутрішньопородних типів, які увійшли до складу української м'ясної породи, а також організацією племінної роботи зі стадами на сучасному етапі їх генезису. Отже, з метою з'ясування причин виявлених особливостей є необхідність проведення більш глибокого аналізу динаміки популяційної структури.

Результати Assignment-тесту двох досліджуваних популяцій свиней української м'ясної породи (рис. 1) переконливо ілюструють, що кожна з популяцій є генетично своєрідною та консолідованою.

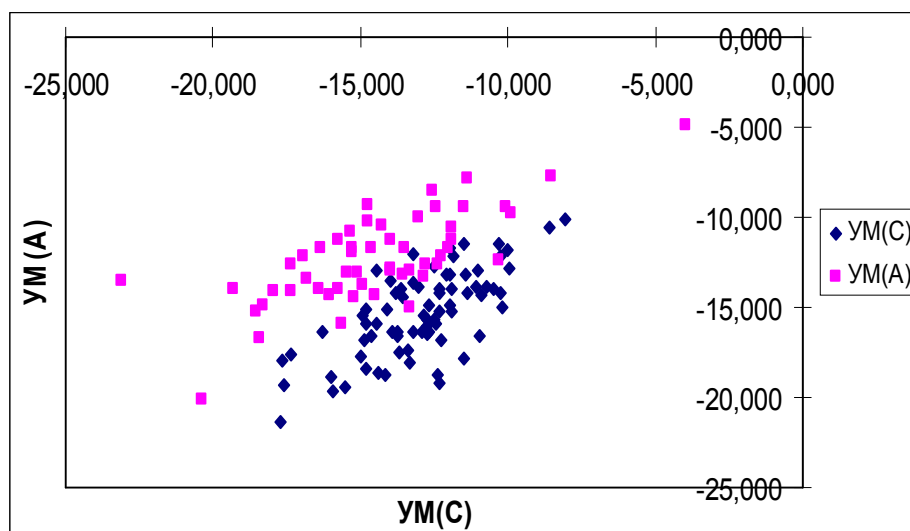


Рис. 1. Результати Assignment-тесту досліджуваних популяцій

Водночас високий ступінь консолідації притаманний і в цілому для всієї української м'ясної породи.

Висновки. Українська м'ясна порода свиней є генетично консолідованою. Водночас вона характеризується високою генетичною диференційованістю своїх структурних елементів. Виявлені особливості дають можливість впровадження селекційних програм спрямованих на отримання ефекту гетерозису за чистопородного розведення.

Перспективою досліджень є подальший моніторинг популяційно-генетичних процесів у даних популяціях, встановлення можливих причин зменшення їх генетичного різноманіття та розробка заходів щодо уникнення негативних наслідків цього процесу.

Література

1. Рыбалко В. П. Отечественные породы свиней Украины, их создатели и современные кураторы / В. П. Рыбалко, В. М. Нагаевич // Таврійський науковий вісник : зб. наук. праць Херсонського ДАУ. — Херсон : Гринь Д. С., 2011. — Вип. 76. — Ч. 2. — С. 3—6.
2. Иовенко В. Н. Генофонд овец и свиней юга Украины по иммуногенетическим маркерам / В. Н. Иовенко, В. В. Герасименко, А. Г. Плахотников. — Новая Каховка : Пиел, 2007. — 140 с.
3. Зиновьева Н. А. Генетическая экспертиза сельскохозяйственных животных: применение тест-систем на основе микросателлитов / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь // Достижения науки и техники АПК. — 2011. — № 9. — С. 19—20.
4. Тихомирова Т. И. Мультилокусное исследование ДНК-микросателлитов в характеристике генофонда свиней различной породной принадлежности и происхождения: дисс. ... кандидата биол. наук : 03.00.23 / Тихомирова Татьяна Ивановна. — Дубровицы, 2008. — 160 с.
5. Оценка вклада различных популяций в генетическое разнообразие свиней корня крупной белой породы / Н. А. Зиновьева, В. Р. Харзинова, Е. И. Сизарева [и др.] // Сельскохозяйственная биология. — 2012. — № 6. — С. 35—42.
6. Оценка уровня генетической дифференцированности популяций свиней крупной белой породы разного происхождения / В. С. Топиха, С. И. Луговой, С. С. Крамаренко [и др.] // Таврійський науковий вісник : зб. наук. праць Херсонського ДАУ. — Херсон : Айлант, 2008. — Вип. 58. — Ч. 2. — С. 74—78.
7. Топіха В. С. Оцінка генетичної диференціації різних генеалогічних ліній свиней великої білої породи / В. С. Топіха, С. І. Луговий, С. С. Крамаренко // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. — Львів, 2008. — Т. 10. — № 2 (37). — Ч. 3. — С. 185—190.
8. Kawasaki E. S. Sample preparation from blood, cells and other fluids. In PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications / Edited by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, T. J. White. — San Diego : Academic Press, 1990. — P. 146—152.
9. Методические рекомендации по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве / [Н. А. Зиновьева, А. Н. Попов, Л. К. Эрнст и др.]. — Дубровицы : ВИЖ, 1998. — 47 с.
10. Ли Ч. Введение в популяционную генетику / Ч. Ли. — М. : Наука, 1978. — 356 с.
11. Peakall R. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update / R. Peakall, P. E. Smouse // Bioinformatics. — 2012. — V. 28. — P. 2537—2539.

References

1. Ribalko V. P. Otechestvennie porodi svynei Ukrainy, ykh sozdateli y sovremennye kuratori / V. P. Ribalko, V. M. Nahaevych // Tavriiskiyi naukovyi visnyk : zb. nauk. prats Khersonskoho DAU. — Kherson : Hrin D. S., 2011. — Vyp. 76. — Ch. 2. — S. 3—6.
2. Yovenko V. N. Henofond ovcy y svynei yuha Ukrainy po ymmunohenetycheskym markeram / V. N. Yovenko, V. V. Herasymenko, A. H. Plakhotnykov. — Novaia Kakhovka : Pyel, 2007. — 140 s.
3. Zynoveva N. A. Henetycheskaia ekspertyza selskokhoziaistvennykh zhyvotnykh: prymerenye test-system na osnove mykrosatellytov / N. A. Zynoveva, E. A. Hladir // Dostyzhenyia nauky y tekhniky APK. — 2011. — № 9. — S. 19—20.
4. Tykhomyrova T. Y. Multylokusnoe yssledovanye DNK-mykrosatellytov v kharakterystyke henofonda svynei razlychnoy porodnoi prynadlezhnosty y proyskhozhdenyia: dyss. ... kandydata byol. nauk : 03.00.23 / Tykhomyrova Tatiana Yvanovna. — Dubrovysy, 2008. — 160 s.

5. Otsenka vkladu razlychnykh populiatsyi v henetycheskoe raznoobrazye svynei kornia krupnoi beloї porodi / N. A. Zynoveva, V. R. Kharzynova, E. Y. Syzareva [y dr.] // Selskokhoziaistvennaia byolohyia. — 2012. — № 6. — S. 35—42.
6. Otsenka urovnia henetycheskoi dyfferentsyrovannosti populiatsyi svynei krupnoi beloї porodi raznoho proyskhozhdennia / V. S. Topykha, S. Y. Luhovoi, S. S. Kramarenko [y dr.] // Tavriiskyi naukovyi visnyk : zb. nauk. prats Khersonskoho DAU. — Kherson : Ailant, 2008. — Vyp. 58. — Ch. 2. — S. 74—78.
7. Topikha V. S. Otsinka henetychnoi dyferentsiatsii riznykh henealohichnykh liniї svynei velykoi biloї porody / V. S. Topikha, S. I. Luhovyi, S. S. Kramarenko // Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Gzhytskoho. — Lviv, 2008. — T. 10. — № 2 (37). — Ch. 3. — S. 185—190.
8. Kawasaki E. S. Sample preparation from blood, cells and other fluids. In PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications / Edited by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, T. J. White. — San Diego : Academic Press, 1990. — P. 146—152.
9. Metodycheskye rekomendatsyy po yspolzovaniyu metoda polymeraznoi tsepoi reaksyy v zhyvotnovodstve / [N. A. Zynoveva, A. N. Popov, L. K. Ernst y dr.]. — Dubrovytsi : VYZh, 1998, — 47 s.
10. Ly Ch. Vvedenye v populiatsyonnuu henetyku / Ch. Ly. — M. : Nauka, 1978. — 356 s.
11. Peakall R. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update / R. Peakall, P. E. Smouse // Bioinformatics. — 2012. — V. 28. — P. 2537—2539.

УДК 636.082**ОЦЕНКА ВНУТРИПОРОДНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ УКРАИНСКОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ СВИНЕЙ ПО ЛОКУСАМ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ ДНК / Луговой С.И.**

Приведены результаты оценки внутрипородной изменчивости популяций свиней украинской мясной породы, разводимых в разных племенных заводах, на основе полиморфизма локусов микросателлитов ДНК. Установлено, что популяции разных племенных заводов характеризуются определенной специфичностью аллельных профилей. В то же время, общей характерной особенностью обеих популяций является дефицит у них гетерозигот, что является свидетельством их высокой генетической консолидированности.

Ключевые слова: свиньи, украинская мясная порода, полиморфизм, микросателлиты ДНК.

UCC 636.082**EVALUATION WITHIN THE BREED VARIABILITY OF UKRAINIAN MEAT PIGS USING MICROSATELLITES DNA LOCI / Lugovii S. I.**

The results of evaluation of within the breed populations pig Ukrainian Meat breed variability, bred in different breeding enterprises, based on microsatellite DNA polymorphism loci are presented in the article. We conclude that populations from different breeding enterprises characterized by a certain specificity of allelic profiles. At the same time, a deficit of them heterozygotes is the common characteristic of both populations. It is a testament to their high genetic consolidation.

Keywords: pigs, Ukrainian Meat breed, polymorphism, DNA microsatellites.

*Рецензент: Топіха В.С., доктор с.-г. наук, професор,
Миколаївський національний аграрний університет*