

Топиха В.С., доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Крамаренко С.С., кандидат биологических наук, доцент
Луговой С.И., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
Николаевский государственный аграрный университет

ОЦЕНКА НЕРАВНОВЕСИЯ ПО СЦЕПЛЕНИЮ И ЭФФЕКТА «BOTTLENECK» ПО ЛОКУСАМ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ ДНК В РАЗВОДИМЫХ В УКРАИНЕ ПОПУЛЯЦИЯХ СВИНЕЙ

Рецензент – кандидат биологических наук К.Ф. Почерняев

У статті наведено результати оцінки нерівноважності по зчепленню та ефекту «вузького місця» («bottleneck») у популяціях свиней різних порід, що розводяться у регіонах країни, які зазнали різного ступеню антропогенного впливу, зокрема наслідків аварії на Чорнобильській АЕС. Встановлено, що у популяціях свиней, які розводяться у господарствах Чернігівської області частота випадків вірогідного відхилення спостережуваної гетерозиготності від рівноважної є вищою – 75% проти 55,3% відповідно ($\chi^2 = 4,85$; $df = 1$; $p = 0,028$).

Ключові слова: популяції свиней, відхилення, гетерозиготність, антропогенний вплив.

Введение. Высокополиморфные генетические маркеры – микросателлиты в наше время выступают основным инструментом для решения многих задач при оценке генетической структуры, а также изучении динамики популяционно-генетических процессов в популяциях различных живых организмов [1].

Важными инструментами статистической генетики, которые недавно нашли широкое применение, являются определение наличия неравновесия по сцеплению (LD) и измерение его значения [2]. В последние несколько десятилетий LD был использован в качестве инструмента для генетического картирования локусов признаков и заболеваний у человека и модельных организмов.

Кроме того, важным показателем в генетике популяций является эффект «bottleneck». Непосредственно в популяциях данный эффект проявляется в виде уменьшения генетического разнообразия. В долгосрочной перспективе, повторение эффектов «bottleneck» может существенно уменьшить жизнеспособность популяций за счет накопления вредных аллелей. Особенно это актуально в тех случаях, когда временной интервал между эффектами «bottleneck» не позволяет создания новых аллелей в результате мутаций [3].

Однако, существенное влияние на результаты оценки данных показателей оказывает тип используемых генетических маркеров. Одним из наиболее подходящих инструментов для проведения оценки неравновесия по сцеплению, а также эффекта «bottleneck» учеными признан полиморфизм микросателлитов ДНК [2].

Целью работы стало проведение оценки неравновесия по сцеплению и эффекта «bottleneck» в популяциях свиней, разводимых в различных регионах Украины, отличающихся, в частности, и разной степенью антропогенного влияния, в особенности, последствиями аварии на Чернобыльской АЭС.

Материалы и методы исследований. Данные исследования выполнены при поддержке Государственного фонда фундаментальных исследований Украины (проект Ф43/011; номер государственной регистрации 0111U006972).

В качестве материала для исследований использовали ткань (ушной выщип) свиней пород крупная белая (КБ), дюрок (Д), ландрас (Л), украинская мясная (УМ), красная белополая (КБП), а также помесей крупная белая × ландрас (КБ × Л). Исследуемые животные принадлежали ООО «Таврийские свиньи» Херсонской области (Х),

ПАО «Племзавод «Степной» Запорожской области (З), СХЧП «Техмет Юг» Николаевской области (Н) и ФХ «Лео и партнеры» и ООО «Агрикор Холдинг» Черниговской области (ЧГ).

Лабораторные исследования проводили в условиях лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики животных Центра биотехнологии и молекулярной диагностики Всероссийского научно-исследовательского института животноводства Россельхозакадемии.

Выделение ДНК проводили с помощью колонок фирмы Nexttec и с использованием набора реагентов D1Atom™ DNA Prep100. Анализ ДНК и постановку ПЦР осуществляли согласно методики ВИЖ [4]. Мультиплексный анализ 12 локусов микросателлитов проводили на генетическом анализаторе ABI Prism 3130x1. Обработку данных капиллярного электрофореза проводили путем перевода длин фрагментов в числовое выражение на основании сравнения их подвижности со стандартом ДНК.

Для проверки гипотезы о наличии неравновесия по сцеплению (LD) в исследованных популяциях свиней нами были рассчитаны соответствующие показатели для каждой пары аллелей каждого из 12 используемых в анализе локусов [5]. Достоверность оценки неслучайности объединения гамет (WHD) была проведена с использованием критерия Хи-квадрат Пирсона [6]. Все расчеты были проведены с помощью программы POPGENE v.1.31 [7].

Для проверки гипотезы о влиянии на генетическую структуру исследованных популяций свиней эффекта «bottleneck» нами были рассчитаны оценки равновесной гетерозиготности (H_{eq}). Они представляют собой ожидаемую гетерозиготность по данному локусу для соответствующего числа аллелей и при условии постоянства численности популяции [8].

При этом нами была использована модель пошаговой мутации (Stepwise Mutation Model – SMM), больше отвечающая особенностям генетической изменчивости микросателлитов ДНК. После этого, оценки фактической и равновесной гетерозиготности сравнивались между собой. Достоверные отклонения отмечались как в случаях, когда фактическая гетерозиготность превышала равновесную ($H_o > H_{eq}$), так и в тех случаях, когда, наоборот, равновесная гетерозиготность была выше фактической ($H_o < H_{eq}$). Все расчеты были проведены с помощью программы Bootteneck v. 1.2.02 [9].

Результаты исследований. В таблице 1 приведены результаты проверки гипотезы о наличии неравновесия по сцеплению в отношении различных локусов микросателлитов ДНК в исследованных популяциях свиней.

1. Результаты проверки гипотезы о наличии неравновесия по сцеплению (LD) в отношении различных локусов микросателлитов ДНК в различных популяциях свиней

Порода / популяция	Количество случаев LD	WHD	$\chi^2_{df=12}$	p
Д (Н)	16	0,099	28,66	0,004
КБ (Н)	60	0,192	27,65	0,006
КБП (Н)	5	0,133	12,94	NS
Д (З)	7	0,133	23,66	0,023
Л (З)	28	0,092	21,16	0,048
КБ (З)	47	0,462	64,49	<0,001
КБ (Х)	12	0,025	7,25	NS
УМ (Х)	20	0,023	17,89	NS
КБ (ЧГ)	15	0,217	17,94	NS
Л (ЧГ)	0	0,128	12,10	NS
КБ × Л (ЧГ)	7	0,145	14,62	NS

Примечания: WHD – оценка неслучайности объединения гамет; NS – недостоверная оценка критерия Хи-квадрат.

Как видим, имеется существенная изменчивость между исследованными популяциями свиней в отношении неслучайности объединения гамет. Так, наибольшее количество случаев неравновесия по сцеплению (LD) отмечалось в популяциях свиней крупной белой породы из хозяйств Николаевской и Запорожской областей – 60 и 47 случаев соответственно. Наименьшее – для популяций свиней пород ландрас (Черниговская область) и красная белопоясная (Николаевская область) – 0 и 5 случаев соответственно.

Таким образом, можно сделать вывод, что на степень неравновесности по сцеплению главным образом оказывает влияние специфика ведения селекционно-племенной работы в каждой конкретной популяции. Достоверного влияния породного, регионального и прочих факторов (в том числе и степени антропогенного влияния) на изученный показатель нами не выявлено.

В таблице 2 приведены результаты проверки гипотезы о влиянии эффекта «bottleneck» на уровень гетерозиготности в различных популяциях свиней по локусам микросателлитов ДНК.

Результаты свидетельствуют о том, что в подавляющем большинстве случаев, когда отмечается достоверное отклонение между наблюдаемой и равновесной гетерозиготностью, это отклонение проявляется в дефиците гетерозигот.

Таким образом, для исследованных популяций свиней уровень генетического разнообразия ниже, чем можно было бы ожидать при равновесии между мутационным процессом и дрейфом генов, а также при неизменной численности популяций.

2. Результаты проверки гипотезы о влиянии эффекта «bottleneck» на уровень гетерозиготности по локусам микросателлитов ДНК в различных популяциях свиней

Порода / популяция	Локусы МС-ДНК											
	SW24	S0155	SW72	SW951	S0386	S0355	SW240	SW857	SW0101	SW936	SW911	SW0228
Д (Н)	E	D	E	E	D	NS	NS	D	NS	NS	D	D
КБ (Н)	D	D	D	NS	D	D	D	D	D	D	NS	D
КБП (Н)	D	NS	E	D	D	D	NS	NS	NS	NS	D	NS
Д (З)	NS	NS	NS	NS	D	D	D	NS	NS	E	NS	D
Л (З)	NS	NS	NS	D	NS	D	NS	NS	E	NS	D	D
КБ (З)	-	D	D	D	D	D	D	D	D	D	-	D
КБ (Х)	D	NS	NS	D	NS	NS	NS	D	NS	NS	D	NS
УМ (Х)	NS	NS	NS	NS	D	D	D	NS	NS	NS	NS	D
КБ (Чг)	-	NS	D	D	D	D	D	E	NS	D	-	D
Л (Чг)	-	E	D	D	E	D	D	E	E	D	-	D
КБ×Л (Чг)	-	NS	NS	NS	D	D	D	E	NS	D	-	D

Примечания: D – достоверный дефицит гетерозиготности; E – достоверный избыток гетерозиготности; NS – не достоверное отклонение гетерозиготности.

По-видимому, такое снижение разнообразия можно объяснить неоднократными процессами «bottleneck», а также высокой степенью инбридинга в популяциях домашних свиней, что, вероятно, обусловлено особенностями искусственного отбора в данных популяциях.

Характерно, что для свиней из северной Украины (хозяйства Черниговской области) достоверно выше частота случаев достоверного отклонения наблюдаемой от равновесной гетерозиготности – 75% против 55,3%, соответственно ($\chi^2 = 4,85$; $df = 1$; $p = 0,028$). Однако соотношение между случаями дефицита и избытка гетерозиготности тут остается примерно таким же, как и в популяциях свиней из южной Украины ($\chi^2 = 1,34$; $df = 1$; $p > 0,05$).

Выводы. В результате проведенных исследований выявлены особенности отклонения наблюдаемой гетерозиготности от равновесной в популяциях свиней, разводимых в Черниговской области. Для выявления причин этого явления, а также проверки гипотезы о влиянии последствий аварии на Чернобыльской АЭС на данный популяционно-генетический параметр целесообразно сравнить полученные результаты с результатами аналогичных исследований, проведенных в популяциях свиней смежных областей – Брянской и Гомельской.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Nidup, K. Genetic diversity of domestic pigs as revealed by microsatellites: a mini-review / K. Nidup, C. Moran // *Genomics and Quantitative Genetics*. – 2011. – V.2. – P. 5–18.
2. Mueller, J. C. Linkage disequilibrium for different scales and applications / J. C. Mueller // *Briefings in bioinformatics*. – 2004. – V. 5. – N. 4. – P. 355–364.
3. <http://en.wikipedia.org/wiki/Bottleneck>
4. *Зиновьева Н.А.* 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.
5. Weir, B. S. Inferences about Linkage Disequilibrium / B. S. Weir // *Biometrics*. – 1979. – V. 35, # 1. – P. 235–254.
6. Smouse, P. E. Multiple-locus departures from panmictic equilibrium within and between village gene pools of Amerindian tribes at different stages of agglomeration / P. E. Smouse, V. E. Neel, W. Liu // *Genetics*. – 1983. – V. 104. – P. 133–153.
7. Yeh, F. C. POPGENE version 1.31: Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis / F. C. Yeh, R. Yang, T. Boyle // University of Alberta, 1999. – 28 p.
8. Luikart, G. Molecular genetic test identifies endangered populations / G. Luikart, F. W. Allendorf, S. Piry, J. M. Cornuet // *Conservat. Biol.* – 1998. – V. 12. – P. 228–237.
9. Cornuet, J. M. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data / J. M. Cornuet, G. Luikart // *Genetics*. – 1996. – V. 144. – P. 2001–2014.

Топиха В.С., Крамаренко С.С., Луговой С.И. Оценка неравновесия по сцеплению и эффекта «bottleneck» по локусам микросателлитов ДНК в разводимых в Украине популяциях свиней.

В статье приведены результаты оценки неравновесности по сцеплению и эффекта «узкого места» («bottleneck») в популяциях свиней разных пород, разводимых в регионах страны, подвергшихся различной степени антропогенного воздействия, в частности последствий аварии на Чернобыльской АЭС. Установлено, что в популяциях свиней, разводимых в хозяйствах Черниговской области частота случаев вероятного отклонения наблюдаемой гетерозиготности от равновесной является выше - 75% против 55,3% соответственно ($\chi^2 = 4,85$; $df = 1$; $p = 0,028$).

Ключевые слова: популяции свиней, отклонение, гетерозиготность, антропогенное влияние.

V. Topiha, S. Kramarenko, S. Lugovoy. Evaluation of linkage disequilibrium and effect «bottleneck» on microsatellite DNA loci in Ukraine bred populations of pigs.

The paper presents the results of evaluation of disequilibrium clutch and effect “bottleneck» in swine populations of different breeds that are bred in regions that have undergone varying degrees of human impacts, including the effects of the Chernobyl accident. Found that in populations of pigs, which are bred in farms Chernihiv region incidence of probable deviation of observed heterozygosity from equilibrium is higher - 75% vs. 55.3%, respectively ($\chi^2 = 4,85$; $df = 1$; $p = 0,028$).

УДК 599.731.1:591.175

Баньковська І.Б., кандидат сільськогосподарських наук

Канюка О.Ю., молодший науковий співробітник

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

ОСОБЛИВОСТІ ДОЗРІВАННЯ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ В ТУШАХ СВИНЕЙ РІЗНИХ ПОРІД

Рецензент – кандидат сільськогосподарських наук О.А. Біндюг

В статті подані результати досліджень динаміки автолітичних змін показників температури, активної кислотності (рН) та електропровідності в окремих м'язах туш свиней вітчизняної і зарубіжної селекції. Встановлено, що породні особливості перебігу післязуб'яних процесів у тушах свиней не мали чіткого прояву. На кожному етапі автолізу різниця спостерігалася переважно між групами м'язів, що мали специфічні особливості швидкості та якості дозрівання. Виявлена чітка тенденція трьох типів зміни показника електропровідності залежно від виду м'яза протягом доби.

Ключові слова: свині, туші, дозрівання, м'язи, автолітичні процеси, періоди.

Постановка проблеми. Відомо, що безсистемне, необґрунтоване впровадження в племінне та товарне виробництво свиней ультрам'ясних генотипів, інтенсивна відгодівля тварин з використанням ферментних добавок, порушення технологічних параметрів передзуб'яної витримки та первинної переробки туш часто призводять до зниження природної резистентності організму, відхилення від норми протікання біохімічних процесів у м'язовій тканині та прояву генетично обумовлених PSE та DFD-вад м'яса [1, 2].

Вивчення перебігу динаміки дозрівання м'язової тканини в тушах свиней м'ясного напрямку продуктивності вітчизняної та зарубіжної селекції протягом першої доби після забою за основними фізико-хімічними показниками є важливим і актуальним для характеристики інтенсивності автолітичних процесів та визначення рівня якості м'яса свиней.

Аналіз останніх досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. Дозрівання м'яса (автоліз) – це сукупність складних біохімічних процесів у м'язовій тканині та зміни фізико-колоїдної структури білків, що відбувається під час внутрішніх ферментативних процесів. Іншими словами: автоліз – це асептичний (без мікробний) автолітичний (під дією власних ферментів) процес, що впливає на фізико-хімічні зміни у м'язовій тканині, які відбуваються після смерті тварини [3].