

ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ РІЗНИХ РОДИН СВИНЕЙ ПОРОДИ ДЮРОК ЗА ЛОКУСАМИ МІКРОСАТЕЛІТІВ ДНК

С. І. Луговий, кандидат сільськогосподарських наук, доцент

С. В. Кіш, аспірант

Науковий керівник – кандидат сільськогосподарських наук, доцент

В. Я. Лихач

Миколаївський національний аграрний університет

У статті наведено результати оцінки генетичної структури різних родин свиней породи дюрок на основі поліморфізму локусів мікросателітів ДНК. Встановлено, що різні родини характеризуються певною специфічністю алельних профілів, яка може бути використана при подальшій поглибленій племінній роботі, а також для генетичної ідентифікації та підтвердження походження тварин.

Ключові слова: мікросателіт, поліморфізм, локус, алель, порода дюрок, родина.

Постановка проблеми. Для запобігання майбутніх проблем у сільському господарстві та харчовій промисловості, очевидно є необхідність докладання значних зусиль для збереження генетичних ресурсів. Розробка дієвих важелів для досягнення означеної мети потребує систематичного моніторингу генетичних процесів у популяціях.

У свинарстві в якості інструмента для оцінки біорізноманіття комерційних, локальних та рідкісних порід часто використовують поліморфізм локусів мікросателітів [2].

В Україні нині розводять 11 вітчизняних та зарубіжних порід свиней. Зокрема, створено новий внутріпородний тип свиней породи дюрок української селекції "Степовий", який затверджений наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України та НААН України від 19.11.2007 року, № 814/116, основними авторами якого є В. С. Топіха, А. А. Волков, С. А. Гнатюк, Ю. Ф. Мельник, С. С. Іванов, Р. О. Трибрат, В. Я. Лихач та ін. [2, 6].

Новий внутріпородний тип свиней породи дюрок з поліпшеними відтворювальними якостями "Степовий" створений методом внутрішньопородної селекції на основі цілеспрямованих поєднань географічних популяцій свиней породи дюрок:

чеської, американської, англійської, датської в умовах повноцінної годівлі. Тварини цієї породи і безпосередньо внутрішньопорідного типу становлять інтерес для вчених-свиноводів при створенні нових порід, типів свиней, спеціалізованих ліній. Значну роботу ведуть з вивчення комбінаційної здатності цих тварин з іншими породами для одержання високопродуктивного молодняка [7].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У результаті попередніх проведених досліджень нами було встановлено особливості генофонду свиней породи дюрорк за локусами мікросателітів ДНК, порівняно з іншими породами свиней м'ясного напрямку продуктивності [4], а також проведено оцінку ступеня генетичної диференціації свиней породи дюрорк, яких розводять в різних племінних заводах [3]. Тому, наразі перспективним є проведення дослідження для оцінки ступеня генетичної диференціації між дрібнішими структурними елементами породи, зокрема родинами.

Мета та методика досліджень. Метою дослідження було встановлення генетичних особливостей різних родин свиней породи дюрорк за локусами мікросателітів ДНК. Для дослідження нами було використано дані генетичного поліморфізму 12 локусів мікросателітів (SW24, S0155, SW72, SW951, S0386, S0355, SW240, SW857, SW0101, SW936, SW911 та S0228) семи родин свиней породи дюрорк, яких розводять у племінному заводі ПАТ «Племзавод "Степной" (n = 72) Запорізької області. У розрізі родин чисельність тварин становила: Росинка – 16 гол., Лілія – 7 гол., Музила – 11 гол., Ромашка – 14 гол., Августа – 12 гол., Вишня – 8 гол., Гастела – 4 гол.

Матеріалом для виділення ДНК були зразки тканини (вушні вищипи) свиней. Консервантом виступав 96%-й етанол.

Лабораторні дослідження виконували в умовах Центру біотехнології та молекулярної діагностики Всеросійського науково-дослідного інституту тваринництва РАСГН. Виділення ДНК здійснювали шляхом лізису в буфері Кавасакі та перхлоратним методом з модифікаціями, розробленими у Центрі біотехнології та молекулярної діагностики Всеросійського інституту тваринництва РАСГН [8]. Постановку ПАР проводили

згідно з «Методическими рекомендаціями по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве» [5].

Мультиплексний аналіз 12 локусів мікросателітів проводили на генетичному аналізаторі ABI Prism 3130×1. Обробку даних капілярного електрофорезу проводили шляхом переведення довжин фрагментів у числовий вираз на підставі порівняння їх рухливості зі стандартом ДНК.

Весь статистичний аналіз проведено на підставі загальноприйнятих методик [1] з використанням програми GenAIEx v. 6.5 [11].

Виклад основного матеріалу досліджень. У середньому в одному локусі мікросателітів у свиноматок різних родин було відмічено від 2,667 (Гастела) до 4,333 (Ромашка) алелів (табл. 1).

Ефективна кількість алелів коливалася у значно вужчому діапазоні – 2,131...2,836. Мінімальне та максимальне значення даного показника також було відмічено у родин Гастели та Ромашки відповідно.

Таблиця 1

Показники генетичного різноманіття різних родин за всіма дослідженими локусами мікросателітів ДНК

Родина	Показник				
	середня кількість алелів на локус, Na	ефективна кількість алелів, Ae	фактична гетерозиготність, Ho	очікувана гетерозиготність, He	індекс фіксації, F
Росинка	4,167±0,423	2,637±0,324	0,572±0,070	0,551±0,055	-0,015±0,066
Лілія	2,917±0,193	2,282±0,196	0,550±0,080	0,518±0,049	-0,061±0,102
Музила	3,750±0,494	2,501±0,422	0,524±0,083	0,506±0,064	-0,029±0,085
Ромашка	4,333±0,414	2,836±0,309	0,591±0,059	0,599±0,044	0,023±0,062
Августа	4,000±0,444	2,798±0,331	1,097±0,110	0,590±0,045	0,065±0,120
Вишня	3,417±0,229	2,296±0,253	0,519±0,078	0,510±0,048	-0,002±0,104
Гастела	2,667±0,225	2,131±0,180	0,507±0,086	0,483±0,055	-0,051±0,140

У п'яти із досліджених родин виявлено переважання фактичної гетерозиготності над очікуваною, а у родин Ромашки та Августи відмічено дефіцит гетерозигот.

Приватні алелі виявлено у п'яти родин: Росинка, Августа та Вишня – по 2; Ромашка – 5; Музила – 1 (табл. 2).

Таблиця 2

**Приватні алелі локусів мікросателітів
у різних родин свиноматок**

Родина	Локус	Алель	Частота
Росинка	SW951	124	0,031
Росинка	SW240	105	0,033
Музила	SW240	123	0,045
Ромашка	SW24	115	0,036
Ромашка	S0155	148	0,036
Ромашка	S0155	156	0,036
Ромашка	SW72	111	0,036
Ромашка	S0355	243	0,083
Августа	SW24	113	0,045
Августа	SW240	113	0,050
Вишня	S0155	162	0,063
Вишня	S0355	257	0,083

Із всіх виявлених приватних алелів по три належать до локусів SW240 та S0155, по два – до локусів S0355 та SW24 та по одному – до локусів SW72 та SW951.

Виявлені особливості алельних профілів кожної із родин можуть бути підґрунтям для визначення маркерних алелей, які можна було б використовувати при подальшій поглибленій племінній роботі, а також для генетичної ідентифікації та підтвердження походження тварин.

У результаті перевірки частот генотипів кожної з родин та стада породи дюрк в цілому відповідності стану генетичної рівноваги Гарді-Вайнберга встановлено, що в цілому у популяції свиней породи дюрк племінного заводу ПАТ "Племзавод "Степной" по восьми локусах із 12 досліджених не виявлено вірогідного відхилення (табл. 3).

У тварин родини Гастели взагалі не виявлено вірогідного відхилення від стану генетичної рівноваги по жодному із локусів, у родин Росинки, Лілії та Музили відхилення від стану генетичної рівноваги відмічено по одному із досліджених локусів – S0355 ($p < 0,01$), SW24 ($p < 0,05$) та S0228 ($p < 0,01$) відповід-

но. У родин Ромашки, Августи та Вишні вірогідне відхилення від стану генетичної рівноваги виявлено за двома локусами.

Таблиця 3

Результати тесту на відповідність генетичній рівновазі Гарді-Вайнберга

Родина	Локуси МС-ДНК											
	SW24	S0155	SW72	SW951	S0386	S0355	SW240	SW857	S0101	SW936	SW911	S0228
Росинка	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Лілія	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Музила	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
Ромашка	ns	***	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Августа	ns	ns	ns	ns	***	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Вишня	ns	*	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Гастела	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	M	ns	ns	ns
Д (С)	ns	***	ns	ns	***	***	ns	ns	ns	ns	ns	***

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

Для більш детального уявлення про характер філогенетичних зв'язків між різними родинами нами було проведено визначення генетичних дистанцій та генетичної подібності між ними. У результаті проведеного розрахунку генетичних дистанцій за М. Nei [9] встановлено, що найбільш генетично диференційованими між собою є родини Гастели та Лілії, а найбільш подібними – Ромашки та Росинки (табл. 4).

Таблиця 4

Генетичні дистанції між різними родинами свиноматок

Родина	Росинка	Лілія	Музила	Ромашка	Августа	Вишня
Росинка	0,000					
Лілія	0,128	0,000				
Музила	0,069	0,156	0,000			
Ромашка	0,040	0,124	0,075	0,000		
Августа	0,101	0,104	0,148	0,098	0,000	
Вишня	0,079	0,135	0,118	0,077	0,073	0,000
Гастела	0,138	0,196	0,186	0,113	0,158	0,134

Висновки. Різні родини свиней породи дюрюк характеризуються певними особливостями генетичних профілів локусів мікросателітів ДНК. Свідченням цього є наявність приватних алелів, а також різниці у ступеня гетерозиготності. Найбільш генетично диференційованими між собою є родини Гастели та Лілії, а найбільш подібними – Ромашки та Росинки.

Список використаних джерел:

1. Ли Ч. Введение в популяционную генетику / Ч. Ли. – М. : Наука, 1978. — 356 с.
2. Лихач В. Я. Продуктивні якості свиней внутрішньопорідного типу породи дюрюк української селекції "Степовий" / В. Я. Лихач, О. М. Романова // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва : зб. наук. праць Білоцерк. держ. аграр. ун-т. – Біла Церква, 2010. – Вип. 3 (72). – С. 21-22.
3. Луговий С. І. Оцінка внутрішньопородної мінливості свиней породи дюрюк за локусами мікросателітів ДНК / С. І. Луговий // Вісник Житомирського національного агро-екологічного університету. – 2013. – Вип. № 1. (35), Т. 2 – С. 105-113.
4. Луговой С. И. Характеристика генофонда мясных пород свиней украинского происхождения по локусам микросателлитов ДНК / С. И. Луговой // Вестник Казанского ГАУ. – Казань, 2013. – № 2 (28). – С. 126-129.
5. 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.
6. Топіха В. С. Нове селекційне досягнення в Україні – Внутрішньопорідний тип свиней породи дюрюк "Степовий" / В. С. Топіха, А. А. Волков // Зб. наук. праць Харківської державної зооветеринарної академії : Сільськогосподарські науки. – Х. : РВВ ХДЗВА, 2007. – Вип. 15(40). – Ч. 1. – С. 25-30.
7. Топіха В. С. Результати племінної роботи з внутрішньопорідним типом свиней породи дюрюк української селекції "Степовий" в умовах ПАТ "Племзавод "Степной" Запорізької області / В. С. Топіха, В. Я. Лихач, С. В. Кіш // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – Миколаїв : МНАУ, 2014. – Вип. 3, Т (2). – С. 158-167.
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. Nei M. Genetic distance between populations / M. Nei // American Naturalist. — 1972. – №106 (949). – P. 283-292.
10. Nidup K. Genetic diversity of domestic pigs as revealed by microsatellites: a mini review / K. Nidup, C. Moran // Genomics and Quantitative Genetics. – 2011. – Vol. 2. – P. 5-18.
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.

С. И. Луговой, С. В. Киш. **Оценка генетической структуры различных семейств свиней породы дюрок по локусам микросателлитов ДНК.**

В статье приведены результаты оценки генетической структуры различных семейств свиней породы дюрок на основе полиморфизма локусов микросателлитов ДНК. Установлено, что разные семейства характеризуются определенной специфичностью аллельных профилей, которая может быть использована при дальнейшей углубленной племенной работе, а также для генетической идентификации и подтверждения происхождения животных.

Ключевые слова: микросателлит, полиморфизм, локус, аллель, порода дюрок, семейства.

S. Lugovoi, S. Kish. **Assessment of the genetic structure of different families of Duroc pigs at loci of microsatellites.**

The article presents the results of the assessment of the genetic structure of different families of Duroc pigs on microsatellite DNA polymorphism loci. It is established that different families are characterized by a certain specificity of allelic profiles that can be used for further in-depth breeding, and genetic identification and confirmation of animal origin.

Key words: microsatellite, polymorphism, locus, allele, Duroc breed, family.