

УДК 636.082.12; 577.21.

ГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ ПОПУЛЯЦІЇ СВИНЕЙ СЕЛЕКЦІЇ ДСГІ ЗА ЛОКУСАМИ FUT1 ТА MUC4

Сировнів Г.І., аспірант

Дніпропетровський державний аграрний університет, м. Дніпропетровськ
syrovnev@fregat.com

Анотація. У відповідності з даними проведеного ПЛР-ПДРФ аналізу біоматеріалу виявлено поліморфізм у популяції свиней української м'ясної породи (тип селекції ДСГІ) за локусами FUT1 і MUC4, що асоційовані зі стійкістю тварин до колибактеріозу. Встановлено особливості розподілу алелів і генотипів за досліджуваними локусами у популяції в цілому, серед плідників і маток основного стада, а також у створюваній інбредній лінії.

Ключові слова: популяція, свині, локус, ген, FUT1, MUC4, інбредна лінія

Актуальність проблеми. Одним із завдань сучасної зоотехнії є розв'язання проблем, що стали наслідками односпрямованої селекції. При цьому потрібно спиратися на досягнення молекулярної генетики, що дозволяє оцінити генофонд породи, стада або лінії за певними генетичними системами. На основі чого можливо розробити програму селекційних заходів, спираючись не лише на абстрактні генетичні визначення, а на конкретні кількісні ознаки генів.

Зокрема, враховуючи значні щорічні втрати поголів'я свиней від кишкових розладів молодняку спричинених ентеропатогенними *E. coli*, одним з найневідкладніших завдань промислового свинарства є попередження і подолання наслідків даних захворювань. Особливу небезпеку ця проблема представляє для крупних свинокомплексів де існує безперервна система відтворення поголів'я [1].

Відомо, що збудниками набрякової хвороби та післявідлучної діареї є кишкові палички *E. coli* із поверхневими структурами типу F4 та F18, відповідно. Потрапляючи до кишківника поросяти ентеропатогенні бактерії, за наявності факторів адгезії або відсутності блокуючих та конкурентних сполук, прикріплюються до ентероцитів, тим самим безпосередньо спричиняючи токсичну дію. При цьому клітини кишківника інтенсивно виділяють рідину із токсикантами, внаслідок чого і виникає діарея, що призводить до загального виснаження організму та врешті колапсу [2, 3].

Факторами, що детермінують адгезію *E. coli* F4 та F18 є сіалоглікопротеїн слизу муцин 4 (MUC4) та фукозилуючий фермент α -фукозилтрансфераза-1 (FUT1). Поліморфізм послідовностей генів MUC4 та FUT1 у свою чергу впливає на процес експресії кінцевих функціональних продуктів. Трансверсія G→C у позиції 1849 п.н. гену MUC4 призводить до синтезу муцину 4, що не адсорбує патогенні *E. coli*. Транзиція G→A у позиції 307 п.н. гену FUT1, призводить до надсинтезу α -фукозилтрансферази-1, що за рахунок своєї дії унеможливорює приєднання бактерій до клітин кишківника. Гени MUC4 та FUT1 являють собою діалельні кодомінантні системи [2, 3, 4, 5].

Практичний інтерес представляє вивчення структур генофонду за вказаними генами у закритій популяції свиней селекції ДСГІ, що декілька десятиліть розводиться «у собі».

Завдання досліджень. Визначити концентрацію алелів та генотипів частот у популяції свиней української м'ясної породи (тип селекції ДСГІ) в цілому, серед батьківських форм основного стада, а також у створюваній інбредній лінії.

Матеріал і методи дослідження. Визначення генотипів проводили у плідників і маток популяції свиней селекції Дніпропетровського СГІ. Виділення ДНК проводили із проб плям крові та щетини тварин у присутності іонообмінної смоли Chelex-100 [6].

Визначення генотипів тварин за локусами FUT1 і MUC4 проводили за допомогою методу ПЛР–ПДРФ згідно стандартних методик спільно зі спеціалістами лабораторії генетики Інституту свинарства та агропромислового виробництва НААНУ [7]. Статистичну обробку результатів здійснювали за розподілом частот алелів та генотипів, рівня гетерозиготності, відхилення від стану рівноваги відповідно до закону Харді–Вайнберга.

Результати досліджень. За допомогою ДНК–маркування виявлено генетичний поліморфізм за локусами FUT1 серед усіх досліджуваних груп тварин популяції (табл. 1). Загалом популяція свиней селекції ДСП характеризується пониженою частотою 0,29 бажаного алелю А за локусом FUT1. Серед плідників та маток розподіл частот алелів відповідає даним по всьому стаду. У інбредній групі тварини частота бажаного алелю А на 0,09 нижча, ніж серед усіх тварин із визначеними генотипами. Диференціація тварин за генотипами показала суттєві розбіжності розподілу генотипів за локусом FUT1 серед аутбредної та інбредної групи. Водночас, слід зазначити, що розподіл генотипів за даним локусом серед плідників та маток був наближений до показників по стаду загалом.

Таблиця 1

Частоти генотипів та алелів за локусом FUT1 у популяції

Група тварин	n	Генотип			Апель		$S_{p,q}$	χ^2
		AA	AG	GG	A	G		
Плідники	36	0,06	0,44	0,50	0,28	0,72	0,050	0,42
Матки	55	0,06	0,47	0,47	0,29	0,71	0,040	1,17
Інбредні	35	0,12	0,17	0,71	0,20	0,80	0,058	7,54**
Аутбредні	56	0,03	0,63	0,34	0,34	0,66	0,034	10,54*
Усе стадо	91	0,06	0,46	0,48	0,29	0,72	0,031	1,55

** — $P \geq 0,95$, * — $P \geq 0,99$ (ймовірності розбіжності між розподілом генотипів досліджуваної популяції та відповідно до закону Харді–Вайнберга)

Показники розподілу алелів та генотипів за локусом MUC4 у досліджуваній популяції та окремих її групах наведено у таблиці 2. Встановлено, що популяція характеризується високим рівнем поліморфізму за локусом MUC4. Значна частина тварин представлена генотипом GG, що обумовлює стійкість молодняку до кишкових розладів спричинених кишковою паличкою. Слід відзначити, що інбредної лінії свиней української м'ясної породи, тип селекції ДСП, характерна найвища концентрація алелю G — 0,72 та відсутність тварин із небажаним генотипом CC.

Таблиця 2

Частоти генотипів та алелів за локусом MUC4 у популяції

Група тварин	n	Генотип			Апель		$S_{p,q}$	χ^2
		GG	GC	CC	G	C		
Плідники	23	0,39	0,48	0,13	0,63	0,37	0,070	0,02
Матки	44	0,25	0,61	0,14	0,56	0,44	0,046	2,64
Інбредні	18	0,44	0,56	—	0,72	0,28	0,059	2,66
Аутбредні	49	0,25	0,57	0,18	0,53	0,47	0,047	1,06
Усе стадо	67	0,30	0,57	0,13	0,58	0,42	0,039	1,84

Серед дослідженої популяції свиней, а також усіх її внутрішньопопуляційних структур підраховано спостережену (H_o) і очікувану (H_e) гетерозиготність, а також індекс фіксації Райта (F_{is}), що вказує на надлишок гетерозигот та наявність інбридингу у популяції. Графічне відображення отриманих величин для кожної із досліджуваних груп за локусами FUT1 та MUC4 наведено у вигляді діаграми на рисунку 1.

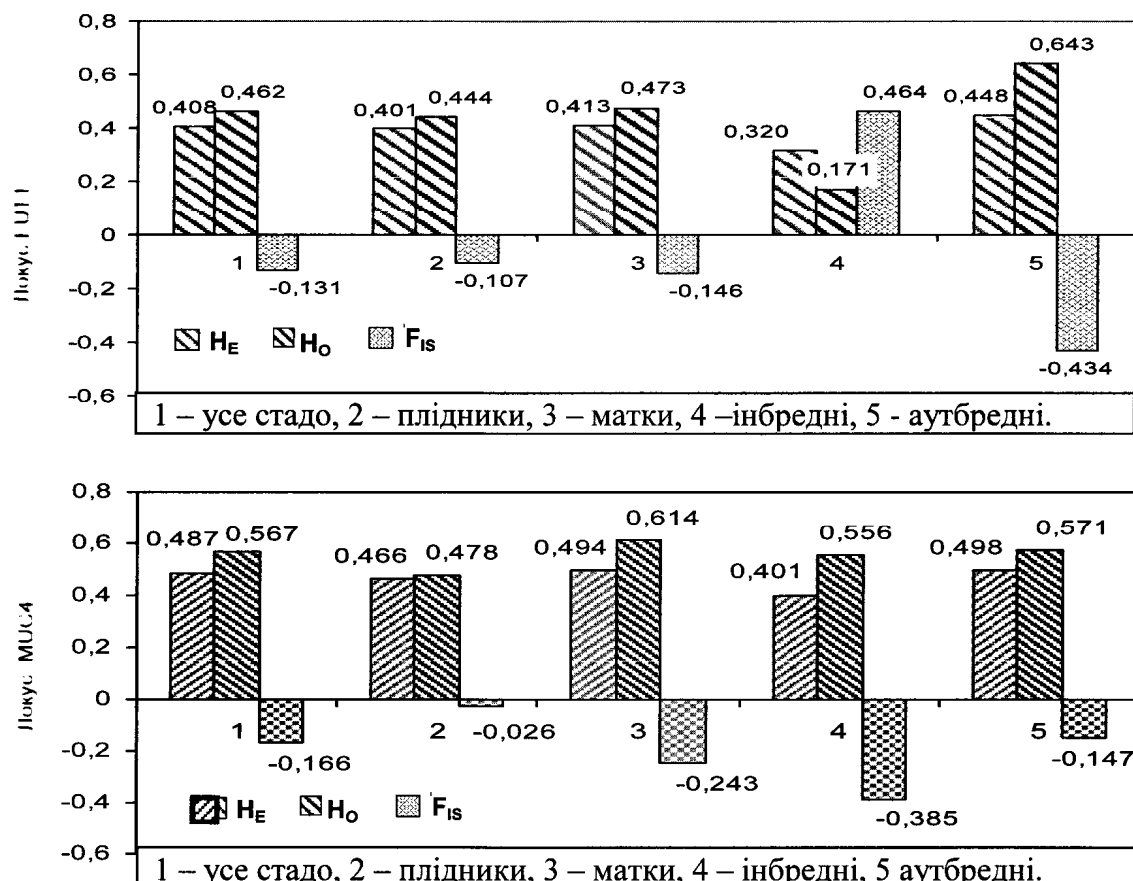


Рис.1 Діаграма гетерозиготності та індексу фіксації Райта за локусами FUT1 та MUC4 у досліджуваній популяції та за окремими групами

Слід відмітити, що для всієї популяції за локусом FUT1 характерне невелике зневалювання спостереженої гетерозиготності над очікуваною, дана закономірність спостерігається у розрізі груп плідників та маток. Однак, для інбредних та аутбредних тварин виявлено певні особливості у розподілі гетерозигот. Для інбредної групи виявлено значно нижчу за очікувану спостережену гетерозиготність, а для аутбредних тварин спостерігаємо зворотну закономірність. Одночасно значення індексів фіксації для даних груп тварин вказують на наявність певного селекційного тиску.

За локусом MUC4 у всіх групах тварин у популяції спостережена гетерозиготність була більшою за очікувану. Найменший індекс фіксації і водночас селекційний тиск спостерігається у розрізі групи плідників ($-0,026$), а найбільший ($-0,385$) в інбредній лінії.

Виявлення певного дисонансу у розподілі генотипів у популяції за досліджуваними локусами можна виявити графічним методом. Нами побудовано діаграму розподілу алелів та генотипів Б. Де Фінетті для популяції свиней типу селекції ДСГІ української м'ясної породи у поєднанні із параболою нормального розподілу Харді–Вайнберга для ідеальної популяції.

Взаєморозташування точок рівноваги для всієї популяції та інбредної лінії свиней селекції ДСГІ за генотипами локусів FUT1 та MUC4 відносно ідеальної популяції зображено на рисунках 2 і 3.

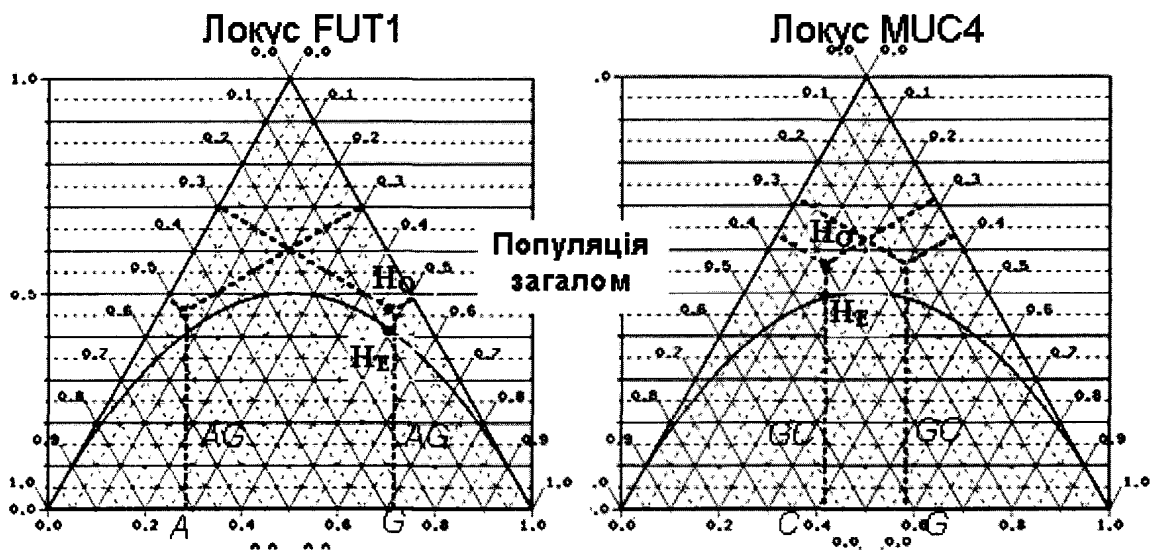


Рис.2 Діаграми Де Фінетті у поєднанні із нормальним розподілом Харді–Вайнберга за локусами FUT1 та MUC4 для всієї популяції

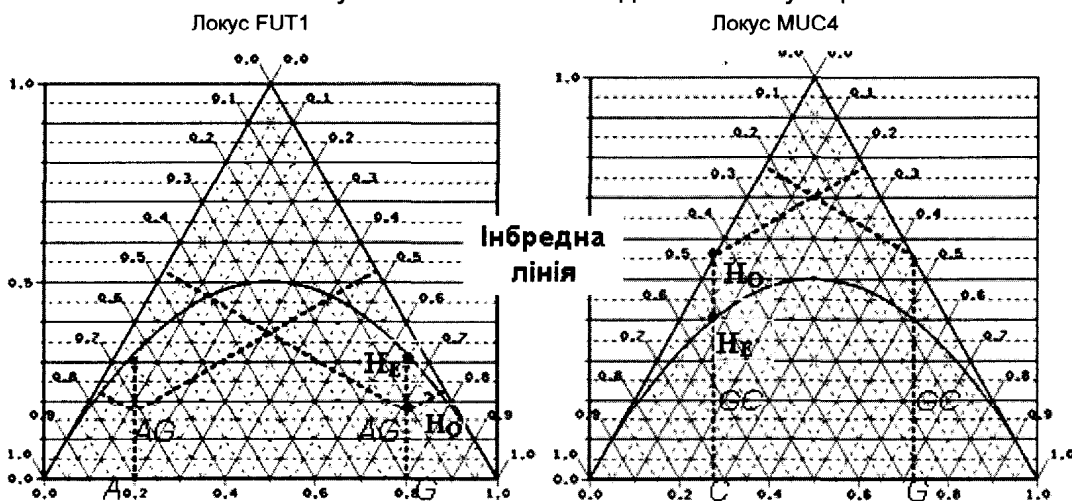


Рис.3 Діаграми Де Фінетті у поєднанні із нормальним розподілом Харді–Вайнберга за локусами FUT1 та MUC4 для інbredної лінії

Розташування точок H_E та H_O вказує не тільки на відповідний рівень гетерозиготності, і водночас на генетичну рівновагу у популяції. Як бачимо найменше відхилення від нормального розподілу спостерігається у популяції в цілому за локусом FUT1. У даному випадку рівень інбридингу дуже низький, на що також вказує розрахунковий індекс фіксації Райта, що підтверджує відсутність спрямованої селекції. Для інbredних тварин характерні досить значні відхилення від стану рівноваги ідеальної популяції за обома досліджуваними локусами. Даний факт пояснюється відносно коротким періодом формування цієї лінії, так як визначення генотипів проводили у тварин п'ятого покоління.

Висновки

1. Визначення генотипів свиней типу селекції ДСГІ української м'ясної породи виявило значний рівень поліморфізму за локусам FUT1 та MUC4, як у популяції загалом, так і серед плідників та маток, а також в інbredній лінії.

2. Встановлено концентрацію алелів серед тварин популяції за досліджуваними локусами. Розподіл частот алелів А та G серед у популяції за локусом FUT1 становить 0,29 та 0,72, відповідно, а за локусом MUC4 алелів G — 0,58 та С — 0,42. Досліджувана популяція свиней характеризується вищою фактичною гетерозиготністю за обома локусами відносно теоретично розрахованої.

3. Для інбредної лінії характерна розбіжність із загальнопопуляційними значеннями частот алелів і генотипів за локусами FUT1 та MUC4. За локусом MUC4 серед інбредних тварин відсутні чутливі до колибактеріозу гомозиготи.

Література

1. Kolacz R., Cwynar P., Filistowicz M. Genetic progress and health implications in swine breeding. *Medycyna Wet.* 2009, 65, p. 435–438
2. Meijerink E., Neuenschwander S., Fries R., Dinter D., Bertschinger H. U., Stranzinger G., Vögeli P.: A DNA polymorphism influencing α -(1,2) fucosyltransferase activity of the pig FUT1 enzyme determines susceptibility of small intestinal epithelium to *Escherichia coli* F18 adhesion. *Immunogen.* 52. — 2000. — p. 129–136.
3. Rampoldi A., Jacobsen M.J., Bertschinger H.U., Joller D., Burgi E., et al. The receptor locus for *Escherichia coli* F4ab/F4ac in the pig maps distal to the MUC4-LMLN region. *Mamm Genome.* 22. — 2011. — p. 122–129.
4. United States Patent № 6,596,923 B1 US, Methods and compositions to identify swine genetically resistant to F18 *E. coli* associated diseases / Bosworth et al.; Date of Patent: Jul. 22, 2003
5. United States Patent № 7,785,778 B2 US, Porcine polymorphisms and methods for detection them / Jorgensen et al.; Date of Patent: Aug. 31, 2010
6. Walsh P.S., Metzger D.A., Higuchi R. Chelex 100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material // *BioTechniques.* — 1991. - №10. — P. 506–9.
7. Саєнко А.М., Балацький В.М., Сировнев Г.І., Сметанін В.Т. Поліморфізм локусів FUT1 та MUC4 у популяції свиней української м'ясної породи селекції Дніпропетровського СГІ. — *Свинарство.* — Вип. 60. — Полтава, 2012. — с. 76–79.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ СВИНЕЙ СЕЛЕКЦИИ ДСХИ ПО ЛОКУСАМ FUT1 И MUC4.

Сировнев Г.И., аспирант syrovnev@fregat.com

Днепропетровский государственный аграрный университет, г.Днепропетровск

Аннотация. В соответствии с данными проведенного ПЦР–ПДРФ анализа биоматериала выявлен полиморфизм в популяции свиней украинской мясной породы (тип селекции ДСХИ) по локусам FUT1 и MUC4, которые детерминируют устойчивость животных к колибактериозу. Установлены особенности распределения аллелей и генотипов по исследуемым локусам в популяции в целом, среди хряков и маток основного стада, а также в создаваемой инбредной линии.

Ключевые слова: популяция, свиньи, локус, ген, FUT1, MUC4, инбредная линия.

A GENETIC VARIATION IN SWINE POPULATION OF DNEPROPETROVSK AGRICULTURAL INSTITUTE SELECTION ON FUT1 AND MUC4 LOCI

Syrovnev G.I., postgraduate, syrovnev@fregat.com

Dnepropetrovsk state agrarian university, Dnepropetrovsk

Summary. According to the PCR-RFLP analysis of biological material polymorphism in the population of the Ukrainian meat breed pigs (the type of Dnepropetrovsk agricultural institute selection) was found at loci FUT1 and MUC4, which determine the resistance to colibacteriosis in animals. The features of distribution on alleles and genotypes for the loci in the general population, among boars and sows in the herd, and in the created inbred line is studied.

Key words: population, swine, locus, gene, FUT1, MUC4, inbred line.