

Почерняєв К.Ф., кандидат біологічних наук
Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОЇ РІЗНОМАНІТНОСТІ ЛОКАЛЬНИХ ПОРІД СВИНЕЙ УКРАЇНИ ЗА ПОЛІМОРФІЗМОМ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДНК

*Рецензент – кандидат біологічних наук, доктор філософії, академік
УАОІ О.Г. Близнюченко*

ПЛР-ПДРФ аналіз поліморфізму ділянки D-петлі мітохондріальної ДНК локальних порід свиней України визначив декілька мітохондріальних гаплотипів у кожній породі. Кожна порода характеризувалася внутрішньопорідним патерном мітохондріальних гаплотипів – гаплогрупою. Незважаючи на критичний стан української степової рябої, популяція зберегла значне генетичне різноманіття мітохондріальних гаплотипів. Всупереч спільності походження, мітохондріальні гаплотипи української степової білої та рябої порід утворили різні гаплогрупи. Об'єднання м'ясопродуктивної та степової рябої породи на основі їх зовнішньої подібності та напрямком продуктивності, що пропонується як захід збереження локальних порід свиней України, приведе до зменшення генетичного різноманіття.

Постановка проблеми. Станом на 2010 рік в Україні нараховувалося 6 локальних порід свиней загальною чисельністю 58 689 племінних тварин, що складає тільки 4 відсотки від 1270777 племінних свиней трансграничних міжнародних порід. Такий стан складає суттєву загрозу генетичному різноманіттю тварин, зокрема свиней. Серед основних причин генетичної ерозії виділяють використання чужорідного генетичного матеріалу, зміни у системі виробництва та кон'юнктурі ринку, що викликані соціально-культурними факторами, а також стихійні лиха і катастрофи (засуха, голод, епідемії, конфлікти і війни) [1]. Додатковими причинами є генетична інтрогресія, розвиток технологій та біотехнологій [2]. Зміна тенденцій у потребі ринку можуть суттєво зменшити породи, що не виробляють продукцію з бажаними характеристиками. Наприклад, перевага споживання більш пісного м'яса привела до зниження числа порід свиней сального напрямку продуктивності. Разом з тим, дослідження специфічних для України загроз генетичному різноманіттю окремих порід, а також причин зникнення ряду порідних груп, практично не проводиться.

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми. Серед основних причин генетичної ерозії виділяють використання чужорідного генетичного матеріалу тому дослідження інтрогресії є складовою частиною збереження генетичної різноманітності порід сільськогосподарських тварин. Так у свиней, генетична варіабельність гену цитохрому В та регіону D-петлі була використана як засіб аналізу генетичних відносин між різними породами і популяціями. Було досліджено чотири SNP гену цитохрому В і зроблено висновок про існування азійських (A1 та A2 гаплотипів) або європейських (E1 та E2 гаплотипів), що походять від деяких європейських стандартних та місцевих порід свиней. Також знайдено існування в одній породі азійських та європейських гаплотипів, а саме: в канарійській чорній (E1, A1, A2), німецькому п'єтрени (E1, A1, A2), бельгійському п'єтрени (E1, A1), великій білій (E1, A1) та ландрас (E1, A1). В протиположності до цього, серед різних типів іберійської породи (Guadyerbas, Ervideira, Caldeira, Campanario, Puebla, Torbiscal) та майоркської чорної знайдено лише один гаплотип E1. Ці результати показують, що інтрогресія китайських порід свиней мала вплив на головні європейські стандартні породи, які збері-

гають в собі азійські гаплотипи з різною частотою (15-56%). В протилежність, місцеві іспанські породи, такі, як іберійська та майорська чорна продемонстрували наявність лише гаплотипи гену цитохрому В. Ця особливість місцевих порід свідчить про відсутність схрещування з китайськими або європейськими комерційними популяціями. Отримані дані ілюструють як географічні обмеження зберегли деякі місцеві іспанські породи від значної інтрогресії, отримання генів інших популяцій при внутрішньовидовій гібридизації, яка мала місце протягом 18-19 століть в Європі [3].

Мета досліджень та методи їх проведення. Для дослідження були взяті зразки крові свинوماتок головних родин миргородської (n=26), української степової білої (n=10), української степової рябої (n=12), полтавської м'ясної (n=28), та червоної білопоясої (n=17) порід. Виділення ДНК проводили з використанням іонообмінної смоли Chelex 100 [1]. Ампліфікацію фрагменту D-петлі, що знаходиться між позиціями 15534 та 15962 мітохондріального геному, проводили на програмованому термостаті ТЕРЦИК-2 (ДНК-Технологии, Росія) з використанням набору реагентів "Тапотили" (ГосНИИ генетики микроорганизмов, Росія) та олігонуклеотидних праймерів власного дизайну [4]: МІТPRO2F: catacaatatgtgacccsa, МІТPROR: gTgAGC ATgggCTgATTAgTC. Аліквоту продукту ПЛР (5 мкл) гідролізували ендонуклеазою TaqI (МВІ Fermentas, Литва).

Продукти ампліфікації й гідролізу ДНК аналізували в 8% поліакриламідному гелі. Як маркер молекулярної маси використовували ДНК плазмиди рBR322 гідролізованої ендонуклеазою MspI. Візуалізацію продуктів ампліфікації та рестрикції здійснювали шляхом фарбування бромистим етидієм і фотографуванням на транс-ілюмінаторі в ультрафіолетовому світлі.

Аналіз генетичних зв'язків між породами виконували з використанням програми MEGA4 [5].

Результати досліджень. Характеристика на молекулярно-генетичному рівні застосовується, головним чином, для аналізу генетичного різноманіття всередині та між породами і для встановлення генетичних зв'язків між цими породами. ПЛР-ПДРФ аналіз поліморфізму ділянки D-петлі мітохондріальної ДНК локальних порід свиней України визначив 8 мітохондріальних гаплотипів по декілька у кожній породі. Кожна порода характеризувалася внутрішньопорідним патерном мітохондріальних гаплотипів – гаплогрупою. Найбільша кількість гаплотипів – 4, була у гаплогрупі полтавської м'ясної породи найменша – 2 у червоної білопоясої. Для всіх порід було визначено специфічні гаплогрупи.

Незважаючи на критичний стан української степової рябої породи (48 основних свинوماتок та 10 кнурів станом на 2010 рік), популяція зберегла значне генетичне різноманіття мітохондріальних гаплотипів рис.1.

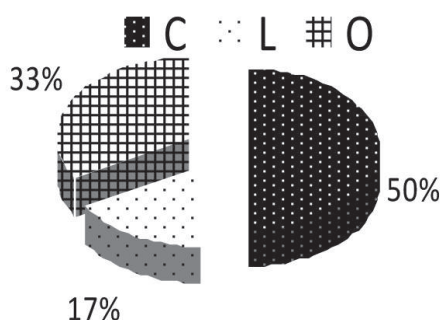


Рис. 1. Мітохондріальні гаплотипи української степової рябої породи свиней

Всупереч спільності походження, мітохондріальні гаплотипи української степової білої та рябої порід утворили різні гаплогрупи рис. 2.

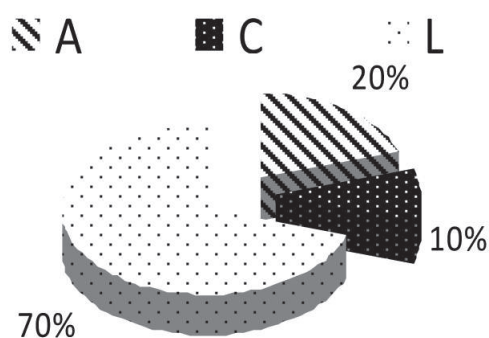


Рис. 2. Мітохондріальні гаплотипи української степової білої породи свиней

Серед свиней миргородської породи визначено 4 європейських мітохондріальних гаплотипи, один з яких можливо походить від місцевих свиней (гаплотип В1), а останні від великої білої породи (гаплотип L), порід гемпшир або уельс (гаплотип С) та ландрас (гаплотип О). Мітохондріальний гаплотип характерний породі беркшир, знайдено не було, що свідчить про втрату родин миргородської породи, які ведуть своє походження від беркширських свиноматок. Мітохондріальний гаплотип В1 не зустрічається серед досліджених порід домашніх свиней та підвидів дикої свині. Наявність цього унікального мітохондріального гаплотипу В1 знайденого серед миргородських свиней, потребує більш уважного та бережливого відношення до миргородської породи (рис. 3).

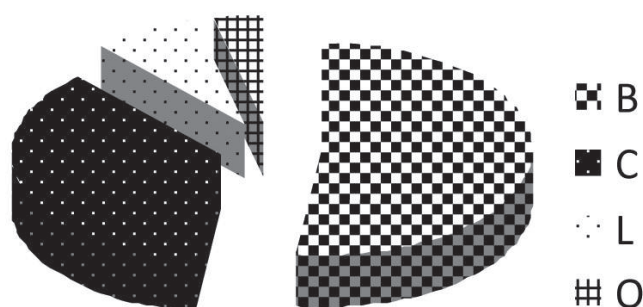


Рис. 3. Мітохондріальні гаплотипи миргородської породи

Об'єднання миргородської та української степової рябої порід на основі їх зовнішньої подібності та напрямком продуктивності, що пропонується як захід збереження локальних порід свиней України окремими вченими-селекціонерами, приведе до зменшення генетичного різноманіття. До порід, які колись були під загрозою зникнення, а тепер мають економічне значення, наприклад, відноситься порода свиней п'єстрен. Ця порода з дуже пісним м'ясом зараз використовується в багатьох програмах схрещувань, а до 1950 р. вона навряд чи була відома за межами бельгійської провінції Брабант. Вона майже повністю зникла під час Другої світової війни, коли попит мали сальні тварини [6].

У генетичній структурі полтавської м'ясної породи свиней, з відносною частотою стрічання 50%, домінує азійський гаплотип J1, що походить від свиноматок великої білої породи. Європейські гаплотипи В1 (7%) та С (39%), що походять від свиноматок миргородської породи, у сумі теж наближаються до половини рис.4. Про інтрогресію мітохондріальних генів свиней миргородської породи до свиней полтавської м'ясної породи, свідчить унікальний мітохондріальний гаплотип В1, який зустрічається тільки у свиней миргородської породи.

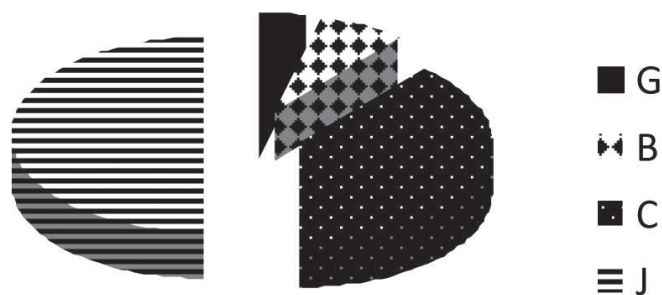


Рис. 4. Мітохондріальні гаплотипи полтавської м'ясної породи

Серед свиней червоної білопоясої породи свиней виявлено тільки 2 мітохондріальні гаплотипи рис.5. Незначна генетична варіабельність взагалі характерна для новостворених порід.



Рис. 5. Мітохондріальні гаплотипи червоної білопоясої породи

Аналіз генетичних зв'язків між дослідженими породами було виконано шляхом реконструкції дендрограми філогенетичних відносин на основі генетичних дистанцій NA. Було встановлено що гаплогрупи українських місцевих порід свиней утворили два окремі кластери порід з різним напрямом продуктивності – м'ясо-сальним та

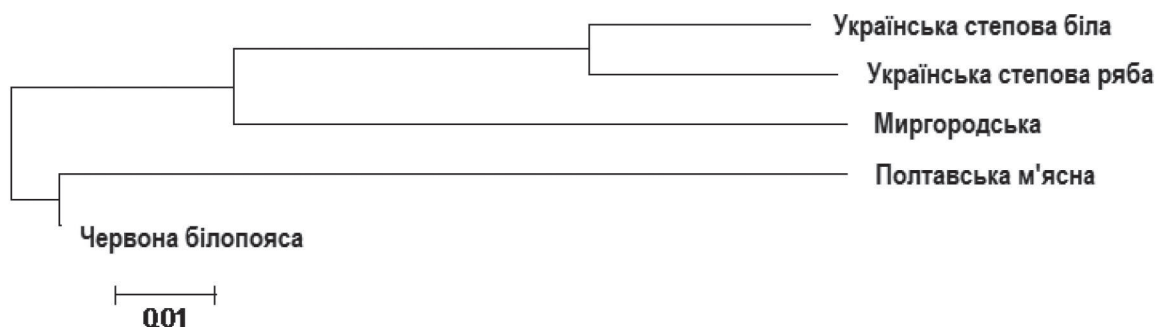


Рис. 5. Дендрограма філогенетичних відносин українських місцевих порід свиней реконструйована на основі генетичних дистанцій NA

Взагалі для тваринництва України характерний «ефект переважання Свенсона». Цей термін описує ситуацію, при якій вибір, зроблений у суспільстві, що розвивається, базується на досягненнях та результатах розвитку іншого суспільства. Вимоги до різкого підвищення обсягів виробництва обумовлюють пріоритет використання високопродуктивних міжнародних транскордонних порід, генетичний матеріал яких легко доступний, що може стати привабливим для тваринників і чиновників в країнах, що розвиваються. При цьому питання використання місцевих порід, навіть якщо їх розвиток може призвести до збільшення виробництва вже у найближчій перспективі, часто не розглядається. У дійсності, в рамках розглянутої проблеми такий процес звужує генетичну різноманітність як всередині породи, так і на міжнародному рівні [7].

Висновки. ПЛР-ПДРФ аналіз поліморфізму ділянки D-петлі мітохондріальної ДНК місцевих українських порід свиней визначив 8 мітохондріальних гаплотипів.

Кожна порода характеризувалася внутрішньопорідним патерном мітохондріальних гаплотипів – гаплогрупою.

Реконструйована за методом UPGMA дендрограма філогенетичних відносин побудована на основі генетичних дистанцій NA показала, що гаплогрупи українських місцевих порід свиней утворили два окремі кластери порід з різним напрямом продуктивності – м'ясо-сальним та м'ясним.

Серед свиноматок миргородської породи знайдено мітохондріальний гаплотип В1, який не зустрічається серед досліджених порід домашніх свиней, окрім свиней полтавської м'ясної породи, та підвидів дикої свині. Наявність цього унікального мітохондріального гаплотипу В1 знайденого серед миргородських свиней, потребує більш уважного та бережливого відношення до миргородської породи

Незважаючи на критичний стан української степової рябої, популяція зберегла значне генетичне різноманіття мітохондріальних гаплотипів.

Всупереч спільності походження, мітохондріальні гаплотипи української степової білої та рябої порід утворили різні гаплогрупи.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Rege J.E.O. Animal genetic resources and economic development: issues in relation to economic valuation / J.E.O. Rege, J.P. Gibson // Ecological Economics. – 2003. – V.45. – №3. – P. 319–330.

2. Tisdell C. Socioeconomic causes of loss of animal genetic diversity: analysis and assessment / C. Tisdell // Ecological Economics. – 2003. – V.45. – №3. – P.365–376.

3. Clop A.. Estimating the frequency of Asian cytochrome B haplotypes in standard European and local Spanish pig breeds / A.Clop, M.Amills, J.L.Noguera, A. Fernández, J.Capote, M.M.Ramón, L.Kelly, J.M.H.Kijas, L.Andersson, A. Sánchez // Genet. Sel. Evol. – 2004. – V.36. – P.97-104.

4. Почерняев К.Ф. Визначення гаплотипів свиней з використанням методу породо-специфічного ПЦР-ПДРФ мітохондріальної ДНК / К.Ф. Почерняев // Ветеринарна біотехнологія. – 2005. - №6. – С.138 – 143.

5. Tamura K. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. / K. Tamura, J. Dudley, M. Nei, S. Kumar // Molecular Biology and Evolution. – 2007. – V. 24. – P. 1596-1599.

6. Vergotte de Lantsheere W. L'élevage du porc en Belgique: amelioration et sélection / W.Vergotte de Lantsheere, A. Lejeune, G. Van Snick // Revue de l'Agriculture. – 1974. – V.5. – P.980-1007.

7. «Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства» /ФАО, 2010. ВИЖ РАСХН, 2010. Москва /Перевод с англ. FAO. 2007. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling. Rome.

Почерняев К.Ф. Оценка генетического разнообразия локальных пород свиней Украины за полиморфизмом митохондриальной ДНК.

ПЦР-ПДРФ анализ полиморфизма участка D-петли митохондриальной ДНК локальных пород свиней Украины определил несколько митохондриальных гаплотипов в каждой породе. Каждая порода характеризовалась внутривидовым паттерном митохондриальных гаплотипов – гаплогруппой. Несмотря на критическое состояние украинской степной рябой породы, популяция сохранила значительное генетическое разнообразие митохондриальных гаплотипов. Вопреки общности происхождения, митохондриальные гаплотипы украинской степной белой и рябой пород образовали различные гаплогруппы. Объединение миргородской и степной рябой породы на основе их внешнего сходства и направлением продуктивности, которое предлагается как способ сохранения

локальних пород свиней в Україні, приведе до зменшення генетичного різноманіття.

К.Ф. Почерняев. Evaluation of genetic diversity of local breeds of pigs in Ukraine on the basis of mitochondrial DNA polymorphisms.

PCR-RFLP analysis of polymorphism in the D-loop region of mitochondrial DNA of local pig breeds of Ukraine has identified several mitochondrial haplotypes in each breed. Each breed was characterized by a pattern of intra mitochondrial haplotypes - haplogroup. Despite the critical state of the Ukrainian Steppe Spotted breed, the population has retained a considerable genetic diversity of mitochondrial haplotypes. Contrary to a common origin, the mitochondrial haplotypes of the Ukrainian Steppe White and the Ukrainian Steppe Spotted formed different haplogroups. Combining the Mirgorod and the Ukrainian Steppe Spotted on the basis of their external resemblance and the direction of productivity, which is offered as a way to preserve of Ukrainian local pig breeds will lead to a decrease of genetic diversity.

УДК 577.21; 636.082.12

Саєнко А.М., молодший науковий співробітник

Балацький В.М., кандидат біологічних наук

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

Сировнів Г.І., аспірант*

Сметанін В.Т., доктор сільськогосподарських наук

Дніпропетровський державний аграрний університет

ПОЛІМОРФІЗМ ЛОКУСІВ FUT1 ТА MUC4 У ПОПУЛЯЦІЇ СВИНЕЙ УКРАЇНСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ СЕЛЕКЦІЇ ДНІПРОПЕТРОВСЬКОГО СГІ

Рецензент – кандидат біологічних наук А.Ф.Сагло

Представлено результати ДНК-типуювання популяції свиней української м'ясної породи, (тип селекції ДСГІ) за локусами FUT1 та MUC4, що асоційовані зі стійкістю тварин до колибактеріозу. Виявлений поліморфізм локусів свідчить про можливість проведення маркерної селекції на підвищення генетичної резистентності свиней до кишкової інфекції.

Постановка проблеми. Однією з актуальних проблем сучасного свинарства є збереження підсисних та відлучених поросят. Вкрай великими залишаються втрати від хвороб спричинених кишковими інфекціями. Кожного року у світі більше 10 млн. поросят гинуть від набрякової хвороби та післявідлучної діареї. Дані симптоми пов'язані з адгезією ентеропатогенних *Escherichia coli* на поверхні клітин кишківника поросят і характерні колибактеріозній інфекції.

Лікування і профілактика колибактеріозу ускладнені двома основними чинниками – широким різноманіттям властивостей і множинною стійкістю збудника до різних антибактеріальних препаратів, а також недостатньою вивченістю молекулярно-генетичних структур бактерій, що відповідають за їх імуногенні та патогенні властивості. Одним із перспективних шляхів вдосконалення специфічної профілактики даного захворювання є проведення селекційних заходів, спрямованих на підвищен-

* Науковий керівник: доктор сільськогосподарських наук В.Т. Сметанін.