

Определены перспективы использования комплексного генотипирования свиней по локусам альфа актинина 1, остепонтина и β -субъединицы фолликуло-стимулирующего гормона в селекционных программах.

Предложена система ранней комплексной молекулярно-генетической оценки хряков для племенных хозяйств, элеваторов и станций искусственного осеменения с высоким потенциалом репродуктивных качеств.

Ключевые слова: ДНК-маркер, фертильность, полиморфизм, крупная белая порода свиней, ПЦР-ПДРФ, гены-кандидаты, локусы количественных признаков (QTL).

V.Y. Nor. The method for early evaluation on potential fertility boars DNA markers. A study of polymorphisms of genes *ACTN1*, *FSH β* , *OPNin6*, associated with reproductive qualities boars local Asian species. Molecular genetic analysis carried out on a sample repair boars large white breed HP "Kalytyanskyu pig farm."

*The established major genetic and population parameters studied micropopulation boars for loci *ACTN1*, *FSH β* , *OPNin6*. All marker used in the system were high polymorphic. Showing credible influence gene β -subunit of follicle stimulating hormone for individual sperm parameters (namely the volume of ejaculate) in boars of large white breed, genotype impact strength at this figure was 36% ($p \leq 0,01$).*

The prospects of complex use of genotyping pigs for loci alpha-actinin 1, osteopontin and β -subunit of follicle stimulating hormone in breeding programs.

A comprehensive system of early molecular genetic evaluation boars for breeding farms and elevators stations of artificial insemination with high potential reproductive qualities.

УДК 636.082:575

Корінний С.М.

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

ВПЛИВ СИСТЕМИ РОЗВЕДЕННЯ НА ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ СТАДА

Рецензент – кандидат біологічних наук В.М. Балацький

У статті наведено дані про вплив системи розведення на популяційно-генетичні параметри стада за мікросателітним локусом FH4219. В господарстві «замкненого» типу (ТОВ «Україна-Т») виявлено більшу аельну різноманітність в порівнянні з господарством «відкритого» типу ТОВ «Фрідом Фарм бекон» про, що свідчить різна кількість виявлених алелів 5 і 3 відповідно. Було виявлено приватні алелі, частоти яких достовірно відрізнялись між досліджуваними популяціями. За частотами алелів 84 н. ($p < 0,05$) і 96 н. ($p < 0,01$) тварини господарства ТОВ «Україна-Т» відрізнялись від тварин ТОВ «Фрідом Фарм бекон» у яких даних алелів не виявлено. В свою чергу у тварин ТОВ «Фрідом Фарм бекон» виявлено алель 88 н. який в господарстві ТОВ «Україна-Т» був відсутнім ($p < 0,001$).

Ключові слова : мікросателітний локус, частоти алелів, рівні гетерозиготності, генетична дистанція, генетична різноманітність.

Вступ. На сьогоднішній день в свинарських господарствах використовують дві системи розведення «відкрити» – коли тварини постійно завозяться з інших госпо-

дарств і відбувається обмін генетичного матеріалу та «замкнений» – коли тварини переважно розводяться в собі [1]. Дані системи розведення не можуть не накладати відбиток на генетичну структуру популяції.

Генетичну структуру популяції в наш час досліджують за допомогою молекулярно-генетичних маркерів [2]. Одним з найпотужніших класів молекулярно-генетичних маркерів для дослідження генетичної різноманітності популяцій є мікросателітні локуси.

Мікросателітами називають прості послідовності розміром 1-6 нуклеотидів, які тандемно повторюються, наприклад $(GATA)_n$, де n – кількість повторів. Цей клас маркерів виявлено в усіх видах еукаріот. Мікросателітні маркери використовують при картуванні генів, визначенні походження (батьківства) та популяційно-генетичних дослідженнях.

Враховуючи вищесказане, **мета роботи** полягала у з'ясуванні впливу різних систем розведення свиней на популяційно-генетичні показники стад.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження виконували на двох стадах червоної білопоясої породи свиней з різними системами розведення. Стадо замкненого типу ТОВ «Україна-Т» ($n=40$) та відкритого типу ТОВ «ФрідомФарм бекон» ($n=40$).

Виділення ДНК проводили з використанням іонообмінної смоли Chelex 100 [3].

Ампліфікацію мікросателітного локусу FH4219 проводили на термостаті ТЕРЦИК-2 (ДНК-Технологии, Росія) з використанням набору реагентів «Тапотили» (ГосНИИ генетики мікроорганізмів, Росія) та олігонуклеотидних праймерів власного дизайну: FH4219F: CACATGCTGTGGGAGCAACC, FH4219R: GCTCAGTAAGCCTAGGTTAGG.

Для оцінювання потужності ампліфікації проводили електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації в нативних умовах з аліквотою продукту ПЛР (5 мкл), рис 1.

Після цього проводили електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації в 8% поліакриламідному гелі в денатуруючій умові. Як маркер молекулярного розміру використовували алельну «драбину» локусу CD4 людини.

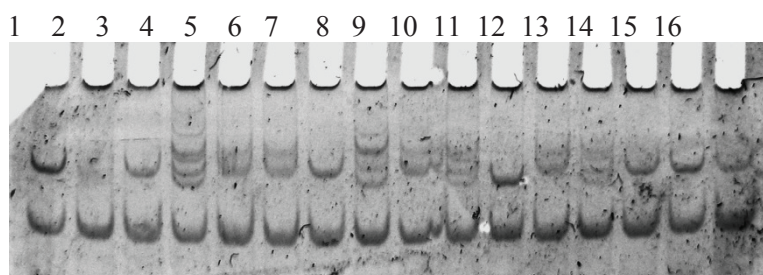


Рисунок 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації тварин господарства ТОВ «Україна-Т» в 6 % поліакриламідному гелі, де 1-16 досліджувані зразки різних тварин.

Візуалізацію продуктів ампліфікації та рестрикції здійснювали шляхом фарбування бромистим етидієм і фотографуванням на транс-ілюмінаторі в ультрафіолетовому світлі (рис 2).

Аналіз алельного різноманіття популяцій з різним рівнем ендогамії виконували з використанням програми, GenAlEx [4].

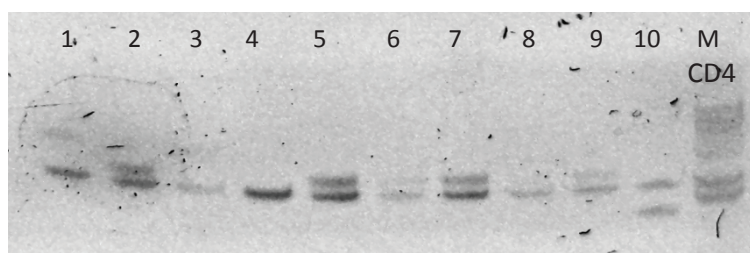


Рисунок 2. Електрофореграма типування тварин за локусом FH4219 тварин господарства ТОВ «Україна Т» в 8% денатуруючому гелі, де 1-10 досліджувані тварини, М – маркер молекулярного розміру.

Результати досліджень.

На основі аналізу поліморфізму мікросателітної ДНК локусу FN4219 визначено популяційно-генетичну характеристику свиней червоної білопоясої породи двох популяцій з різним рівнем міграції.

Частоти алелів локусу FN4219 представлено на рис.3.

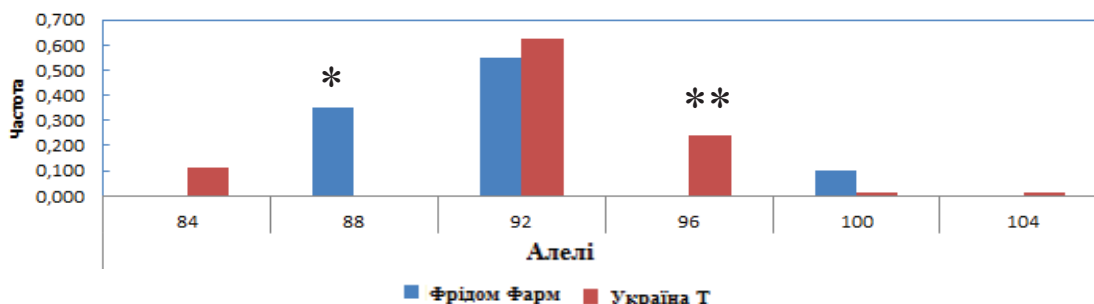


Рисунок 3. Діаграма частот алелів локусу FN4219 в досліджених господарствах.

В господарстві «замкненого» типу (ТОВ «Україна-Т») спостерігається більша аельна різноманітність в порівнянні з господарством ТОВ «Фрідом Фарм Бекон» про, що свідчить різна кількість виявлених алелів 5 і 3 відповідно.

Частоти алелів в господарстві «Україна-Т» знаходились в межах від 0,013 до 0,625, а господарства «Фрідом Фарм бекон» від 0,100 до 0,550. Виявлено достовірні відмінності частот алелів між дослідженими популяціями. Частота алеля 84 нуклеотиди тварини господарства «Україна-Т» (0,113) достовірно відрізнялись від «Фрідом Фарм бекон» (даний алель не виявлено) $p < 0,05$. За другим порогом достовірності досліджені господарства різнились за частотою алеля розміром 96 нуклеотидів. А частоти алеля розміром 88 нуклеотидів тварини господарств різнились за третім порогом ($p < 0,001$).

За рівнями фактичної та очікуваної гетерозиготності популяції ТОВ «Україна-Т» та «ФрідомФарм бекон» суттєво не відрізнялись. Так само суттєво не відрізнявся фіксаційний індекс -0,150 і -0,111 відповідно до таблиці.

Таблиця

Рівні гетерозиготності та фіксаційний індекс в досліджених господарствах

Популяція	Локус	N	Гетерозиготність		Фіксаційний індекс
			фактична	очікувана	
Фрідом Фарм бекон	FN4219	40	0,650	0,565	-0,150
Україна-Т		40	0,600	0,540	-0,111

Генетична незважена дистанція за Неєм між субпопуляціями господарств склала 0,260.

Отримані результати дозволяють прогнозувати відсутність ефекту інбредної депресії у стаді свиней червоної білопоясої породи ТОВ «Україна-Т» та можливість інбредної депресії у стаді свиней ТОВ «Фрідом Фарм бекон». Разом з тим, високі показники продуктивності, як відгодівельні так і відтворювальні дозволяють стверджувати, що знайдено критичну межу зменшення генетичного різноманіття ($h=0,095$). Одержані результати добре узгоджуються з твердженням, що серед основних причин генетичної ерозії є використання чужорідного генетичного матеріалу.

Висновки.

1. Рівень інформативності дозволяє застосовувати локус FN4219 для популяційних досліджень та для експертизи походження.

2. Було виявлено приватні алелі, частоти яких достовірно відрізнялись між досліджуваними популяціями. За частотами алелів 84 н. ($p < 0,05$) і 96 н. ($p < 0,01$) тварини господарства «Україна Т» відрізнялись від тварин «Фрідом Фарм» у яких дані алелі

не виявлено. В свою чергу у тварин «Фрідом Фарм» виявлено алель 88 н. який в господарстві «Україна Т» був відсутнім ($p < 0,001$).

3. В господарстві «замкнутого» типу («Україна Т») спостерігається більша алельна різноманітність в порівнянні з господарством «Фрідом Фарм» про, що свідчить різна кількість виявлених алелів 5 і 3 відповідно.

4. Популяція господарства ТОВ «Фрідом Фарм бекон» формується з використання завозних кнурів, що накладає відбиток на популяційно-генетичні показники.

БІБЛОГРАФІЯ

1. Глазко В.И. Русско-англо-украинский толковый словарь по прикладной генетике ДНК-технологии и биоинформатике/ В.И. Глазко, Г.В. Глазко. – К. : Нора-принт, 2000. – С. 194.

2. Митичашвили Р.С. Иммуногенетическая изменчивость при селекции заводских и аборигенных свиней / Р.С. Митичашвили, В.Н. Тихонов // Цитология и генетика. – 1990. – Т.24 № 1. – С. 34-39.

3. Walsh P.S. Chelex 100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material / P.S. Walsh, D.A. Metzger, R. Higuchi // BioTechniques. – 1991. – № 10. – P. 506.

4. Peakall, R. and Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Molecular Ecology Notes – 2006. – 6. – P. 288-295.

Коринный С.Н. Влияние системы разведения на популяционно-генетические параметры стада.

В статье представлены данные о влиянии системы разведения на популяционно-генетические параметры стада по микросателлитному локусу FH4219. В хозяйстве «закрытого» типа (ООО «Украина-Т») обнаружено большее аллельное разнообразие по сравнению с хозяйством «открытого» типа ООО «Фридом Фарм бекон», о чем свидетельствует разное количество обнаруженных аллелей 5 и 3 соответственно. Было найдены частные аллели, частоты которых достоверно отличались между исследуемыми популяциями. По частотам аллелей 84 н. ($P < 0,05$) и 96 н. ($P < 0,01$) животные хозяйства ООО «Украина-Т» отличались от животных ООО «Фридом Фарм бекон» у которых данных аллелей не обнаружено. В свою очередь у животных ООО «Фридом Фарм бекон» выявлен аллель 88 н., который в хозяйстве ООО «Украина-Т» отсутствовал ($p < 0,001$).

Ключевые слова: микросателлитный локус, частоты аллелей, уровни гетерозиготности, генетическая дистанция, генетическое разнообразие.

S.M. Korinnyi. Effect of breeding system for population and genetic parameters of a herd.

The article presents data on the effect of breeding system for population genetic parameters of microsatellite loci FH4219. The farm "closed" type (LLC "Ukraine-T") found greater allelic diversity in comparison with the herd "open" type of "Freedom Farm Bacon", as evidenced by the different number of alleles detected 5 and 3, respectively. It was found private alleles frequencies were significantly different between the study populations. According to the allele frequencies of 84 n. ($P < 0,05$) and 96 n. ($P < 0,01$) animal farming LLC "Ukraine-T" differed from animals of "Freedom Farm Bacon" in which these alleles were detected. In turn, the animals of "Freedom Farm Bacon" allele identified 88 n., which is in the herd LLC "Ukraine-T" was absent ($p < 0,001$).

Key words: microsatellite locus, alleles frequencies, levels of heterozygosity, genetic distance, genetic diversity.