

УДК 636.082:575
© 2012

К.Ф. Почерняєв,
кандидат
біологічних наук

В.Г. Артюх

*Інститут свинарства
і агропромислового
виробництва НААН*

ЧИСТОПОРІДНІСТЬ СВИНЕЙ ТА МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЗА НЕЮ

Мітохондріальні гаплотипи, виявлені у деяких формально чистопородних свиней порід великої білої, дюрок і ландрас, свідчать про їхнє гібридне походження. Грунтуючись на одержаних даних, пропонуємо внести зміни до закону України про племінну справу щодо чіткого визначення чистопородних і гібридних свиней, а племінне поголів'я оцінювати за всіма специфічними характеристиками породи.

Директива Ради щодо зоотехнічних стандартів у свинарстві 88/661ЕЕС декларує, що країни-учасники мають право вимагати чи дозволяти одержувати інформацію про чистопородних свиней від інших учасників-держав і мати їхню специфічну характеристику, яка дає змогу відрізнити їх від тварин інших порід з метою вступу до вибраної секції племінної книги тієї породи, до якої ці свині належать [4]. Оскільки породи неможливо вивчати як чисті лінії, специфічною характеристикою породи можуть бути тільки ознаки, або гени, які перебувають у гомозиготному стані. Зазвичай це якісні ознаки. Історично склалися, що для характеристики більшості порід свиней колір щетини та шкіри одержав статус породною ознаки. З метою оцінки за екстер'єром для кожної породи розроблено стандарти, в яких масть і відмітини були чітко визначеними. Широке використання у свинарстві міжпородного схрещування дало змогу методами класичної генетики визначити локус I домінантного білого кольору та локус E (extention) — домінантного чорного. Згодом було встановлено і молекулярно-генетичну основу домінантного білого фенотипу. Вона визначила у 2-х нуклеотидних замінах у гені KIT, що кодує рецептор фактора росту стовбурових клітин [9], та домінантного чорного — у ряді несинонімічних нуклеотидних замін гена рецептора меланокортину 1 (MC1R) [7]. Для визначення належності окремих тварин до певних порід використовують молекулярно-генетичний аналіз алейного стану генів KIT— домінантний білий та MC1R — домінантний чорний [11].

Специфічні характеристики тварин певної породи також можна отримати завдяки аналізу частини геному, в якій відсутні чи обмежені рекомбінаційні процеси. На практиці використовують специфічну для порід нуклеотидну послідовність Y-хромосом і мітохондрій. Ці характерні нуклеотидні послідовності утворилися в різних підвидах диких предків домашніх тварин. Після одомашнення їх успадковували місцеві породи, а від них і культурні. Для різних порід тепер визначено специфічні гаплотипи мітохондріального геному.

На відміну від скотарства та конярства [6], у свинарстві використання гаплотипів Y-хромосом обмежено незначним поліморфізмом [2]. Водно-

час специфічні для порід свиней гаплотипи мітохондрій існують. Визначити їх можна як методом секвенування, так і за поліморфізмом довжин рестриктних фрагментів [5, 8, 10].

Мета роботи — перевірити специфічні характеристики, що успадковуються за материнським типом у племінних тварин порід великої білої, дюрок і ландрас.

Матеріал і методи. Досліджено зразки сперми 30 кнурів порід великої білої, дюрок і ландрас ЗАТ ПЗ «Агро-Регіон» Бориспільського району Київської області. Виділення ДНК проводили з використанням іонообмінної смоли Chelex 100 [12]. Ампліфікацію фрагмента D-петлі, що міститься між позиціями 15534 та 15962 мітохондріального геному, проводили на програмованому термостаті ТЕРЦИК-2 (ДНК-Технології, Росія) з використанням набору реагентів «Тапотили» (ГосНИИ генетики, Росія) та олігонуклеотидних праймерів власного дизайну [1]: MITPRO2F: CA TACAATATgTgACCCCAA, MITPROR: gTgAGC ATgggCTgATTAgTC-3'. Аліквоту продукту полімеразної ланцюгової реакції (5 мкл) гідролізували ендонуклеазою *TasI* (MBI Fermentas, Литва). Продукти ампліфікації та гідролізу ДНК аналізували у 8%-му поліакриламідному гелі. Як маркер молекулярної маси використовували ДНК плазмиди *pBR322*, гідролізовані ендонуклеазою *MspI*. Візуалізацію продуктів ампліфікації та рестрикції здійснювали фарбуванням бромистим етидієм і фотографуванням на транслюмінаторі в ультрафіолетовому світлі.

Результати досліджень та їх обговорення. Застосований методичний підхід одночасно залучав до аналізу 5 SNP регіону D-петлі мітохондріального геному свині, що давало змогу визначити 18 мітохондріальних гаплотипів (A, B₁, B₂, C, D, E, F, G, H, I, J₁, J₂, K, L, M, N, O, P). Ці гаплотипи, за літературними даними, притаманні певним породам свиней [6, 8]. Оскільки всі мітохондрії одного організму тварини походять від мітохондрій яйцеклітини, вони мають однакову нуклеотидну послідовність мітохондріальної ДНК. Отже, у клітинах усіх тканин однієї тварини чітко визначається один мітохондріальний гаплотип.

Стан всесвітніх генетичних ресурсів тварин аналізують у сфері виробництва харчових про-

дуктів і сільського господарства, зокрема і ФАО. До реєстру порід ФАО, починаючи з 2000 р., заносять породи, для яких встановлено молекулярно-генетичні характеристики. Це пояснюється тим, що іноді досить складно чітко розмежувати породи через подібність ознак, особливо господарсько корисних. Тому для отримання специфічної характеристики породи потрібно дослідити її молекулярно-генетичні характеристики. Так, усі досліджені кнури за своїми фенотиповими ознаками відповідали заявленим породам. Проте мітохондріальні гаплотипи окремих тварин були не характерними для заявлених порід. Наприклад, один з досліджених кнурів великої білої породи мав мітохондріальний гаплотип G, що трапляється у тварин породи уельс. Ці дані узгоджуються з результатами попередніх досліджень, коли було встановлено, що популяція свиней української великої білої породи відрізняється від чистопородної великої білої значно більшим поліморфізмом, зокрема мітохондріальних гаплотипів [3].

У 29% досліджених плідників породи ландрас

визначено мітохондріальний гаплотип N, притаманний великій білій породі. Серед кнурів породи дюрк траплялися тварини з мітохондріальними гаплотипами породи ландрас С — 30% та великої білої L — 35%. Отже, нехарактерні мітохондріальні гаплотипи встановлено у деяких формально чистопородних свиней — порід великої білої, дюрк і ландрас, що свідчить про їхнє гібридне походження.

Оскільки мітохондріальний геном має всього 27 генів, що порівняно з 20–25 тис. ядерними хромосомними генами дуже мало, вплив мітохондріальних генів на формування специфічних ознак породи незначний. Проте завдяки відсутності рекомбінаційних процесів мітохондріальний геном є об'єктивним генетичним маркером, який і через ряд поколінь чистопородного розведення дає змогу викрити інтрогресію генів свиней інших порід. За відсутності вибракування тварин — носіїв неспецифічних для породи мітохондріальних гаплотипів будуть втрачені такі специфічні характеристики порід, як мітохондріальні гаплотипи.

Висновки

ПЛР-ПДРФ аналіз 5-ти SNP регіону D-петлі мітохондріального геному свині дає змогу визначити нехарактерні мітохондріальні гаплотипи, виявлені у деяких формально чистопородних представників свиней порід великої білої, дюрк і ландрас, що свідчить про їхнє

гібридне походження. У законі України про племінну справу потрібно внести зміни щодо чіткого визначення чистопородних і гібридних свиней, а племінне поголів'я оцінювати за всіма специфічними характеристиками породи.

Бібліографія

1. Почерняєв К.Ф. Визначення гаплотипів свиней з використанням методу породоспецифічного ПЛР-ПДРФ мітохондріальної ДНК/К.Ф. Почерняєв//Вет. біотехнологія. — 2005. — № 6. — С. 138–143.
2. Почерняєв К.Ф. Консервативність транскрипції ділянки гена SRY домашніх та диких свиней/К.Ф. Почерняєв//Наук. вісн. НУБіП України/Редкол: Д.О. Мельничук (відп. ред.) та ін. — К., 2009. — Вип. 138. — С. 265–269.
3. Почерняєв К.Ф. Установлення породності свиней з використанням поліморфізму мітохондріального геному/К.Ф. Почерняєв, А.А. Гетья//Розведення і генетика тварин. — 2007. — Вип. 41. — С.223–239.
4. COUNCIL DIRECTIVE of 19 December on the zootechnical standards applicable to breeding animals of the porcine species (88/661/EEC).
5. Giuffra E. The Origin of the Domestic Pig: Independent Domestication and Subsequent Introgression/ E. Giuffra, J.M.H. Kijas, V. Amarger, O.J. Carlborg, L. Andersson//Genetics. — 2000. — V. 154. — P. 1785–1791.
6. Groeneveld L.F. Genetic diversity in farm animals/ L.F. Groeneveld, J.A. Lenstra, H. Eding, M.A. Toro, B. Scherf, D. Pilling, R. Negrini, E.K. Finlay, H. Jianlin, E. Groeneveld, S. Weigend//Animal Genetics. — 2010. — V. 41. — P. 6–31.
7. Kijas J. Melanocortin Receptor 1 (MC1R) Muta-

tions and Coat Color in Pigs/J.Kijas, R.Wales, A.Törnsten, P.Chardon, M.Moller, L.Andersson//Genetics. — 1998. — V. 150. — P. 1177–1185.

8. Kim K-1. Phylogenetic relationships of Asian and European pig breeds determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism/K-1. Kim, J-H. Lee, K. Li, Y-P. Zhang, S-S. Lee, J. Gongora, C. Moran// Anim. Genet. — 2002. — V. 33. — P. 19–25.

9. Marklund S. Molecular Basis for the Dominant White Phenotype in the Domestic Pig/S. Marklund, J. Kijas, H. Rodriguez-Martinez, L. Rönnstrand, K. Funari, M. Moller, D. Lange, I. Edfors-Lilja, L. Andersson//Genome Research. — 1998. — V. 8. — P. 826–833.

10. Okumura N. Genetic relationship amongst the major non-coding regions of mitochondrial DNAs in wild boars and several breeds of domesticated pigs/N. Okumura, Y. Kurosawa, E. Kobayashi, T. Watanobe, N. Ishiguro, H. Yasue, T. Mitsuhashi//Anim. Genet. — 2001. — V. 32. — P. 139–147.

11. U.S. Patent: 6183955 — Methods for determining the coat color genotype of a pig — February 6, 2001.

12. 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.