

АНАЛІЗ ГЕНЕТИКО-ДЕМОГРАФІЧНИХ ПРОЦЕСІВ В ПОПУЛЯЦІЇ ХУДОБИ ПІВДЕННОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ

О. С. Крамаренко, аспірант

Наук. керівник – д.с.-г.н., професор Гиль М.І.

Миколаївський національний аграрний університет

Встановлено, що досліджена популяція худоби південної м'ясної породи залежить від дії генетико-демографічних процесів. Особливо їх негативна дія позначається на тваринах низькокровного підтипу. Для цих тварин відмічається втрата деяких рідкісних алелей та прояв ефекту «пляшкового горла», що призводить до підвищення рівня інбридингу.

Ключові слова: генетико-демографічні процеси, мікросателіти, ефект «пляшкового горла», південна м'ясна порода.

Постановка проблеми. Вважається, що близько 70% існуючого сьогодні поголів'я свійських тварин знаходяться в країнах, що розвиваються, де ризик їх генетичного зникнення є дуже високим. Для підтримки генетичного різноманіття та уникнення подальшої втрати важливих тваринних генетичних ресурсів неабияке значення має кількісна оцінка цих процесів, моніторинг фактичних станів популяцій у часі й просторі [1, 2].

Південна м'ясна порода великої рогатої худоби була створена у результаті поєднання генетичного матеріалу порід шортгорн, санта-гертруда, герефорд, шароле та кубинський зебу [3]. Аналіз генетичного різноманіття породи було проведено лише з використанням імуногенетичних маркерів та деяких структурних генів [3, 4]. Дослідження ж рівня генетичного поліморфізму тварин цієї породи з використанням надваріабельних генетичних маркерів (мікросателітів) взагалі не проводилося.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Мікросателіти – короткі тандемні олігонуклеотидні повтори завдовжки 1-8 пар нуклеотидів. Завдяки високій варіабельності і ступеню поліморфізму, кодомінантному типу успадкування, відомій локалізації в геномі вони дають змогу вирішувати широкий

спектр теоретичних і практичних завдань у селекційній роботі, а також розробляти питання маркер-допоміжної селекції [5].

Так, одним із таких важливих завдань є оцінка наслідків (насамперед негативних) генетико-демографічних процесів у популяціях свійських тварин, особливо тих, що маю невисоку чисельність. Важливими наслідками таких процесів є зниження генетичного різноманіття, підвищення рівня інбридингу та, як наслідок, зниження ефективної чисельності популяції [6].

Метою нашого дослідження став аналіз прояву генетико-демографічних процесів (насамперед ефекту «пляшкового горла» (**bottleneck**) та нерівновага по зчепленню (**LD**)) з використанням панелі з 12 локусів мікросателітів.

Матеріали і методика. Матеріал для лабораторного дослідження (вушні вищипи) було відібрано від корів південної м'ясної породи (**n = 192**) стада ДПДГ «Асканійське» НААН України (Каховський район Херсонської області). З них 100 голів належало до низькокрівного підтипу («санта-гертруда»), а 92 – до висококрівного («зебу»).

Лабораторні дослідження було проведено в умовах лабораторії молекулярної генетики тварин Центру біотехнології та молекулярної діагностики тварин ВІТ ім. А.К. Ернста Російської Федерації.

Екстракцію ДНК проводили на колонках **Nexttec (Nexttec Biotechnologie GmbH, Germany)** згідно з рекомендаціями виробника і перхлоратним методом – за методиками ВІТ ім. А.К. Ернста. Аналіз ДНК і постановку ПАР проводили згідно з методичними розробками Центру біотехнології і молекулярної діагностики тварин ВІТ [5].

У дослідженнях використовували такі локуси мікросателітів: **TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA122, INRA23, TGLA126, BM1818, ETH3, ETH225, BM1824**. Для їх аналізу виконували одну мультіплексну ПАР, що дозволяла діагностувати поліморфізм за всіма локусами одночасно. Аналіз ампліфікованих фрагментів здійснювали за допомогою приладу для капілярного електрофорезу **ABI 3130xl (Applied Biosystems, США)**. Для ідентифікації алелей мікросателітних локусів використовували програму **GeneMapper ID v. 3.2**.

Обробку даних капілярного електрофорезу проводили шляхом переведення довжин фрагментів у числовий вираз на підставі порівняння їх рухливості зі стандартом ДНК.

Для аналізу наслідків генетико-демографічних процесів в субпопуляціях корів південної м'ясної породи різних підтипів ми використали чотири різні методики.

По-перше, для кожного локусу (як в межах обох підтипів, так і для породи в цілому) нами розраховано *M-ratio* (тобто відношення загальної кількості зареєстрованих алелей до ліміту довжин алелей на підставі методу [7]).

По-друге, проведено порівняння між оцінками фактичної гетерозиготності (*H_o*) та «рівноважної» (*H_{eq}*), що повинна була б бути, якщо популяція знаходиться у стані рівноваги між мутаційним процесом та дрейфом генів. Оцінку останньої нами отримано на підставі методу Т.Р.М., що реалізований в програмі **Bottleneck** [8]. Гіпотезу відсутності прояву ефекту «пляшкового горла» було перевірено з використанням непараметричного критерію знаків.

По-третє, наявність нерівноваги по зчепленню (*LD*) між всіма парами використаних локусів мікросателітів проаналізовано за допомогою програми **PopGene** [9]. Нарешті, оцінки ефективної чисельності (*N_e*) було отримано на підставі мультилокусних генотипів за 12 локусами мікросателітів з використанням програми **NeEstimator** [10].

Результати досліджень. Незважаючи на те, що за кількістю зареєстрованих алелей тварини низько- та висококровного підтипів майже не відрізняються (табл. 1), нами відмічено значні й вірогідні відмінності у відношенні отриманих оцінок *M-ratio* (тест знаків: $p < 0,01$).

Оскільки даний показник характеризує інтенсивність зменшення рівня генетичного різноманіття внаслідок дії генетико-демографічних процесів (насамперед коливань чисельності, інбридингу та ефекту «пляшкового горла»), то його більш низькі значення для тварин низькокровного генотипу свідчать про більшу вразливість субпопуляції цих тварин до дії таких процесів. Таким чином, можна очікувати, що у разі різкого зниження чисельності, в першу чергу в генофонді популяції

будуть зникати рідкісні алелі, але не завжди із найменшою чи найбільшою довжиною [7]. Відповідно, алельне різноманіття буде зменшуватися швидше, ніж розмах довжини алелей, що призводить до зменшення оцінок *M-ratio*, як це було нами отримано для тварин низькокровного підтипу.

Таблиця 1

Оцінки показника *M-ratio* для 12 локусів мікросателітів серед корів південної м'ясної породи різних підтипів

Локус	Низькокровний підтип		Висококровний підтип		У цілому для породи	
	<i>Na</i>	<i>M-ratio</i>	<i>Na</i>	<i>M-ratio</i>	<i>Na</i>	<i>M-ratio</i>
TGLA227	11	0,379	14	0,519	15	0,517
BM2113	9	0,474	9	0,474	10	0,526
TGLA53	12	0,414	11	0,458	13	0,419
ETH10	8	0,471	8	0,533	9	0,529
SPS115	8	0,471	7	0,538	8	0,471
TGLA122	8	0,229	9	0,257	9	0,257
INRA23	9	0,391	10	0,435	10	0,435
TGLA126	5	-	4	-	7	-
BM1818	8	0,533	8	0,471	9	0,529
ETH3	11	0,355	11	0,407	13	0,419
ETH225	10	0,400	11	0,524	13	0,520
BM1824	7	0,467	7	0,467	8	0,533

Примітка: *Na* – кількість зареєстрованих алелей.

З другого боку, проявом дії генетико-демографічних процесів є зниження рівня гетерозиготності та, відповідно, більш високий рівень інбредності серед тварин. У цьому випадку фактична гетерозиготність буде значно менше за «рівноважну» (*Heq*), оскільки дрейф генів переважатиме дію мутаційного процесу [6]. Для тварин південної м'ясної породи різних підтипів оцінки фактичної та «рівноважної» значно відрізняються одна від одної. Однак суттєві відмінності відмічено лише серед тварин низькокровного підтипу (табл. 2). Серед них для восьми локусів було відмічено переважання «рівноважної» гетерозиготності над фактичною та для чотирьох локусів – протилежна картина. Для тварин висококровного підтипу це співвідношення було шість до шести.

Таблиця 2

Оцінки гетерозиготності для 12 локусів мікросателітів корів південної м'ясної породи різних підтипів

Локус	Низькокровний підтип		Висококровний підтип	
	<i>Ho</i>	<i>Heq</i>	<i>Ho</i>	<i>Heq</i>
TGLA227	0,649	0,805	0,609	0,853
BM2113	0,717	0,748	0,859	0,746
TGLA53	0,351	0,831	0,481	0,814
ETH10	0,810	0,709	0,793	0,717
SPS115	0,720	0,713	0,717	0,679
TGLA122	0,730	0,716	0,859	0,747
INRA23	0,740	0,746	0,772	0,776
TGLA126	0,545	0,699	1,000	0,692
BM1818	0,867	0,716	0,769	0,717
ETH3	0,329	0,800	0,566	0,799
ETH225	0,167	0,831	0,250	0,852
BM1824	0,620	0,671	0,533	0,682
Тест знаків	0,061		0,335	

Таким чином, можна говорити про деяку тенденцію в прояві ефекту «пляшкового горла» серед корів низькокровного підтипу, оскільки нульову гіпотезу в їх випадку можна відкинути лише з рівнем значущості **0,061** (тест знаків). Для тварин висококровного підтипу різкого та вірогідного зменшення рівня гетерозиготності за багатьма локусами мікросателітів одночасно не відбувається. При цьому, відмічаються випадки зчепленого успадкування для алелей різних локусів серед тварин як низько-, так й висококровного підтипів (табл. 3). Хоча в цілому, знову ж оцінка міри не випадкового об'єднання гамет (*HWD*) серед тварин низькокровного підтипу переважає відповідну для корів іншої дослідної групи (**0,221** та **0,313**, відповідно).

Примітка. *NLD* – кількість випадків зчеплення між алелями різних локусів мікросателітів. *HWD* – міра не випадкового об'єднання гамет.

Як відомо, за правилом «**50:500**», якщо ефективна чисельність популяції перевищує **500** особин – популяція знаходиться у сприятливому стані, якщо знаходиться у межах **50...500** особин – у загрозовому, і, нарешті, якщо знижується нижче **50** особин – на межі зникнення [11].

Таблиця 3

**Результати аналізу LD на підставі поліморфізму
12 локусів мікросателітів для корів південної
м'ясної породи різних підтипів**

Підтип	NLD	HWD	df	χ^2	p
Низькокровний	34	0,221	12	64,63	< 0,001
Висококровний	33	0,131	12	36,94	< 0,001

Оцінки ефективної чисельності для тварин як різних підтипів, так і породи у цілому знаходяться у межах **101-140** (з **95%** довірчим інтервалом: **82-195**) особин (табл. 4). Таким чином, отримані нами оцінки свідчать про певну загрозу їх генетичному різноманіттю.

Таблиця 4

**Оцінки ефективної чисельності корів південної
м'ясної породи різних підтипів на підставі
поліморфізму 12 локусів мікросателітів**

Підтип	Оцінка N_e	95% довірчий інтервал
Низькокровний	139,9	107,2-195,3
Висококровний	101,2	81,6-130,7
Для породи в цілому	131,4	114,2-153,3

Висновки і перспективи подальших досліджень.

Нами встановлено, що досліджена популяція худоби південної м'ясної породи знаходиться під дією генетико-демографічних процесів і негативна їх дія особливо відмічена серед тварин низькокровного підтипу. Для них відмічається втрата деяких рідкісних алелей та прояв ефекту «пляшкового горла», що призводить до підвищення рівня інбридингу.

Подальші дослідження повинні продовжити моніторинг рівня генетичного поліморфізму тварин даної породи (з використанням локусів мікросателітів) для запобігання зменшення їх ефективної чисельності.

Список використаних джерел:

1. Hall S. J. G. Livestock breeds and their conservation: A global overview / S. J. G. Hall, J. Ruane // Conservation Biology. — 1993. — V. 7. — P. 815—825.

2. Hall S. J. G. Conserving livestock breed biodiversity / S. J. G. Hall, D. G. Bradley // *Trends in Ecology & Evolution*. — 1995. — V. 10. — P. 267—270.
3. М'ясне скотарство в степовій зоні України / [Ю. В. Вдовиченко, В. І. Вороненко, В. О. Найдьонова та ін.] — Нова Каховка : ПІЕЛ, 2012. — 307 с.
4. Копилова К. В. Особливості генетичної структури різних порід великої рогатої худоби за локусами кількісних ознак (QTL) / К. В. Копилова, К. В. Копилов, К. О. Арнаут. // *Науковий вісник Національного університету біоресурсів та природокористування України*. — 2009. — Вип. 138. — С. 239—246.
5. Зиновьева Н. А. Генетическая экспертиза сельскохозяйственных животных: применение тест-систем на основе микросателлитов / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь // *Достижения науки и техники АПК*. — 2011. — № 9. — С. 19—20.
6. Frankham R. Introduction to conservation genetics / R. Frankham, D. A. Briscoe, J. D. Ballou // *Cambridge University Press*, 2010. — 644 p.
7. Garza J. C. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci / J. C. Garza, E. G. Williamson // *Molecular Ecology*. — 2001. — V. 10. — P. 305—318.
8. Piry S. Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data / S. Piry, G. Luikart, J. M. Cornuet // *Journal of Heredity*. — 1999. — V. 90. — P. 502—503.
9. Yeh F. C. PopGene. Microsoft Windows based freeware for population genetic analysis: Quick User Guide / F. C. Yeh, R. C. Yang, T. Boyle // *University of Alberta*, 1999. — 28 p.
10. Peel D. NeEstimator: Software for estimating effective population size / D. Peel, J. R. Ovenden, S. L. Peel // *Queensland Government, Department of Primary Industries and Fisheries, Queensland, Australia*, 2004.
11. Frankham R. Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses / R. Frankham, C. A. J. Bradshaw, B. W. Brook // *Biological Conservation*. — 2014. — V. 170. — P. 56—63.

А. С. Крамаренко. Анализ генетико-демографических процессов в популяции скота южной мясной породы.

Установлено, что исследованная популяция скота южной мясной породы подвергается воздействию генетико-демографических процессов. Особенно их негативное воздействие отмечено среди животных низкокровного подтипа. Для этих животных отмечается потеря некоторых редких аллелей и проявление эффекта «бутылочного горлышка», что приводит к повышению уровня инбридинга.

O. Kramarenko. Analysis of genetic and demographic processes in the population of the Southern Meat cattle breed.

The studied population of the Southern Meat cattle breed is exposed to genetic and demographic processes. The negative impact of these processes was registered for «Santa-Gertrudis» subpopulations particularly. Significant loss of rare alleles and the manifestation of the bottleneck effect have been marked for these animals. High level of inbreeding is the result of these processes.