

32. Logigian, E. L., E. Ciafaloni., L. C. Quinn, N. Dilek, S. Pandya, R. T. Moxley, and C. A. Thornton. 2007. Severity, type, and distribution of myotonic discharges are different in type 1 and type 2 myotonic dystrophy. *Muscle Nerve*. 35: 479–485.
33. Valberg, S. J., G. P. Carlson, G. H. Cardinet, E. K. Birks, J. H. Jones, A. Chomyn, and S. Dimauro. 1994. Skeletal muscle mitochondrial myopathy as a cause of exercise intolerance in a horse. *Muscle and Nerve*. 17: 305–312.
34. Taylor, R. W., A. M. Schaefer, M. J. Barron, R. McFarland, and D. M. Turnbull. 2004. The diagnosis of mitochondrial muscle disease. *Neuromuscular Disorders*. 14: 237–245.
35. Valberg, S. J., and J. Mickelson. 2006. Glycogen branching enzyme deficiency. *In: Proceedings of the 52nd Annual American Association of Equine Practitioners Convention, San Antonio, TX*: 351–353.
36. Valberg, S. J. 2006. Polysaccharide storage myopathy. *Proceedings of the 51st Annual American Association of Equine Practitioners Convention, San Antonio, TX*: 373–380.
37. Valberg, S. J., and J. R. Mickelson 2007. The interplay of genetics, exercise and nutrition in polysaccharide storage myopathy. *Proceedings of the 25th Annual American College of Veterinary Internal Medicine Conference, Seattle, WA*. 163–165.
38. Xu, X., and U. Arnason. 1994. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of the control region. *Gene*. 148: 357–362.

УДК 577.21:636.082

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ПРОГНОЗУВАННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ СВИНЕЙ РІЗНИХ ПОРІД УКРАЇНИ

В. Ю. НОР<sup>1</sup>, О. І. МЕТЛИЦЬКА<sup>2</sup>, Д. В. БІЛАЙ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН (Полтава, Україна)

<sup>2</sup> Інститут розведення і генетики тварин ім. М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)

<sup>3</sup> Полтавський інститут бізнесу Міжнародний науково-технічний університет імені академіка Ю. Бугая (Полтава, Україна)

[maestropoltava@rambler.ru](mailto:maestropoltava@rambler.ru)

Проведено дослідження поліморфізму генів *ACTN1*, *FSHβ*, *OPN1b*, асоційованих з репродуктивними властивостями кнурів, і *PLIN1* та *PLIN2* – з відгодівельними та м'ясними якостями свиней порід різного напрямку продуктивності. Молекулярно-генетичний аналіз здійснений на вибірці з шести порід та міжпородних помісей свиней різного напрямку продуктивності – велика біла, велика чорна, миргородська, полтавська м'ясна, ландрас та помісні тварини велика біла × ландрас.

Встановлені основні генетико-популяційні параметри свиней досліджуваних порід за локусами *ACTN1*, *FSHβ*, *OPN1b*, *PLIN1* та *PLIN2*. Показаний достовірний вплив гену  $\beta$ -субодиниці фолікуло-стимулюючого гормону на окремі показники спермопродукції у кнурів великої білої породи і поліморфізмів гену *PLIN* на м'ясні якості свиней великої білої та миргородської порід. Визначено перспективи використання комплексного генотипування свиней за дослідженими локусами у селекційних програмах.

**Ключові слова:** свині, поліморфізм, кандидатний ген, ДНК-маркер, ПЛР-ПДРФ, продуктивність, локуси кількісних ознак (QTL)

## MOLECULAR ASPECTS OF GENETIC PRODUCTIVITY FORECASTING OF DIFFERENT PIG BREEDS IN UKRAINE

© В. Ю. Нор, О. І. Метлицька, Д. В. Білай, 2015

V. Yu. Nor<sup>1</sup>, O. I. Metlitska<sup>2</sup>, D. V. Bilay<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute pig and agricultural production NAAS (Poltava, Ukraine)

<sup>2</sup>Institute of Animal Breeding and Genetics nd. a M.V.Zubets of NAAN (Chubynske, Ukraine)

<sup>3</sup>Poltava Institute of Business International Science and Technical University named after Yuri Bugay (Poltava, Ukraine)

[maestropoltava@rambler.ru](mailto:maestropoltava@rambler.ru)

*The study of gene polymorphism ACTN1, FSH $\beta$ , OPNin6, associated with the reproductive qualities of boars and PLIN1, PLIN2 – with fattening and meat qualities productive direction of different pig breeds. Molecular genetic analysis was performed on a sample of six purebred and crossbred pig of different direction productivity – Large White, Large Black, Mirgorodska, Poltava meat, Landrace and crossbred animals Large White  $\times$  Landrace. Investigated the basic population genetic parameters for different breeds of pigs ASTN1, FSH $\beta$ , OPNin6, PLIN1 and PLIN2 loci. Showed a significant effect of the  $\beta$ -subunit of follicle-stimulating hormone gene on some indicators of male sperm pigs of Large White breed and PLIN gene polymorphisms on the formation of pigs meat quality of Large White and Mirhorodska breeds. The prospects for a comprehensive genotyping of pigs on the investigated loci in breeding programs.*

**Key words: pig polymorphism, candidate gene, DNA marker, RFLP-PCR, productivity, quantitative trait locus (QTL)**

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ СВИНЕЙ РАЗНЫХ ПОРОД УКРАИНЫ**

В. Ю. Нор<sup>1</sup>, О. И. Метлицкая<sup>2</sup>, Д. В. Белай

<sup>1</sup>Институт свиноводства и агропромышленного производства НААН (Полтава, Украина)

<sup>2</sup>Институт разведения и генетики животных имени М.В.Зубца (Чубинское, Украина)

<sup>3</sup>Полтавский институт бизнеса Международный научно-технический университет имени академика Ю. Бугая (Полтава, Украина)

[maestropoltava@rambler.ru](mailto:maestropoltava@rambler.ru)

*Проведено исследование полиморфизма генов ACTN1, FSH $\beta$ , OPNin6, ассоциированных с репродуктивными показателями хряков, и PLIN1, PLIN2 – с откормочными и мясными качествами свиней пород разного направления продуктивности. Молекулярно-генетический анализ проведен на выборке из шести пород и межпородных помесей свиней разного направления продуктивности – крупной белой, крупной черной, миргородской, полтавской мясной, ландрас и помесных животных крупная белая  $\times$  ландрас.*

*Установлены основные популяционно-генетические параметры свиней исследованных пород по локусам ACTN1, FSH $\beta$ , OPNin6, PLIN1 и PLIN2. Показано достоверное влияние гена  $\beta$ -субъединицы фолликулостимулирующего гормона на некоторые показатели спермопродукции хряков крупной белой породы и полиморфизмов гена PLIN на формирование мясных качеств свиней крупной белой и миргородской пород. Намечены перспективы использования комплексного генотипирования свиней по исследуемым локусам в селекционных программах.*

**Ключевые слова: свиньи, полиморфизм, кандидатный ген, ДНК-маркер, ПЦР-ПДРФ, продуктивность, локусы количественных признаков (QTL)**

**Вступ.** Інтенсифікація розвитку галузі свинарства, орієнтована на збільшення м'ясної продуктивності, зокрема пісного м'яса в туші, скоростиглості та зниження конверсії кормів, дедалі частіше негативно корелює з відтворювальною здатністю тварин, а також є серйозною загрозою для існування місцевих порід, що не відповідають вимогам ринку, але характеризуються унікальними адаптаційними якостями і специфічністю генофонду. Однією з таких порід свиней України по праву вважається миргородська, яка на даний момент знаходиться на межі зникнення. Робота з малочисельними популяціями свиней методами

класичної індексної селекції не запобігає негативним ефектам інбридингу, тому потребує використання додаткової надійної генетичної інформації про рівень мінливості і генетичної схожості особин, призначених для репродукції. Зміні ситуації, що склалася, може сприяти впровадження елементів маркер-асоційованої селекції у програми з розведення малочисельних, автохтонних та зникаючих порід. Явище генетичної гетерогенності для більшості кандидатних генів кількісних ознак призводить до необхідності окремого популяційного дослідження для кожної породи і розробки селекційних стратегій на основі результатів генетичного аналізу референтних стад з урахуванням характерних паратипових факторів. Ідентифікація головних генів, які здійснюють найбільший внесок в загальну фенотипову варіансу і зумовлюють прояв ознаки, що селекціонується, з подальшим відбором тварин бажаного генотипу, складають основу даного методичного підходу [1].

Визначення оптимальних генотипів, що забезпечують високу пенетрантність кількісної ознаки на фоні відповідних паратипових умов, складає основу маркер-допоміжної селекції (MAS), головною метою якої є швидке досягнення генетичного прогресу, переважно для ознак з низькими коефіцієнтами успадкування, до яких відносять репродуктивні якості тварин.

Для своїх досліджень ми обрали наступні локуси кількісних ознак (QTL):

*Ген бета-субодиниці фолікуло-стимулюючого гормону (FSH $\beta$ )*, впливає на багатоплідність свиноматок; відносно обраного для нашого дослідження поліморфізму (A5894G/T5908C) виявлено суттєву асоціацію певних генотипів з показником концентрації сперми у свиней породи п'єтрен [2].

*Ген остеопонтину (OPNin6)*. Низкою досліджень у галузі гуманної медицини доведено, що остеопонтин відноситься до класу білків, що приймають участь у формуванні рецептивності ендометрію та адекватній імплантації ембріонів. У свиней порід п'єтрен та їх помісей з гемпширами поліморфізм, що викликаний делецією у шостому інтроне, суттєво впливає на такі показники, як кількість живих поросят при народженні та рухливість сперміїв [3].

*Ген альфа-актиніну 1 (ACTN1)* входить до родини генів  $\alpha$ -актинінів, які впливають як на розвиток м'язової системи і, таким чином, визначає ознаки, пов'язані з якістю м'яса а також детермінує розвиток окремих репродуктивних функцій. Обраний для дослідження одонуклеотидний поліморфізм (G>A у 18 позиції інтрона) асоційований з показником кількості поросят, що народилися живими та функціональними якість сперматозоїдів у свиней порід п'єтрен та місцевих азійських порід [4].

Надмірне відкладення жиру у кнурів-плідників може певною мірою вплинути на їх статеву поведінку. Воно може призвести до зниження статевої активності, адже кнурці з надмірною масою швидко виснажуються, що веде до зниження інтенсивності їх використання. Крім того, послаблюються статеві рефлекси, що є причиною вибракування тварин зі стада. Утримання таких плідників є економічно не доцільним, тому раціони годівлі мають бути збалансованими і відповідати умовам утримання кнурів та інтенсивності їх використання.

Жировідкладення суттєво детерміновано генотипом тварини. З розвитком маркер-допоміжної селекції та впровадженням її у свинарство, досліджена структура та функції низки локусів, що мають відношення до процесів депонування жиру [5, 6, 7]. Одним з таких генів є периліпін (*PLIN*), окремі поліморфізми кодуєчої послідовності якого асоційовані з такими показниками як середньодобовий приріст, товщина шпиків та вміст пісного м'яса в туші. Дві точкові заміни: *PLIN1* (4119A>G) та *PLIN2* (7966T>C), що призводять до утворення алелів, асоційованих із відгодівельними якість свиней, ми обрали для свого дослідження [8].

Метою нашої роботи було: дослідити поліморфізм генів *ACTN1*, *FSH $\beta$* , *OPNin6* у зв'язку з репродуктивними якість кнурів і *PLIN1* та *PLIN2* – з відгодівельними показниками порід різного напрямку продуктивності, визначити перспективні напрями використання генотипування тварин за вказаними локусами в практичній селекції.

**Матеріали і методи досліджень.** Для проведення молекулярно-генетичних експериментів були використані 457 препаратів ДНК свиней порід ландрас, полтавська м'ясна, велика біла, велика чорна, миргородська та помісей велика біла×ландрас з 13 господарств України. ДНК була екстрагована із крові та щетини тварин за допомогою реагенту Chelex 100 [9, 10] на базі лабораторії генетики Інституту свинарства і АПВ НААН.

Для ДНК-типуння тварин за локусами *ACTN1*, *FSHβ*, *OPNin6*, *PLIN1* та *PLIN2* використовували метод ПЛР-ПДРФ [11]. ПЛР проводили за методикою, рекомендованою виробником набору реагентів (Тапотілі, Росія) у власній модифікації на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-технологія», Росія) за використання специфічних праймерів [1,2,5,8] за такими програмами ампліфікації (табл. 1).

У результаті ПЛР синтезувалися фрагменти локусів *ACTN1*, *FSHβ*, *OPNin6*, *PLIN1* та *PLIN2*, які гідролізували ферментами рестрикції, за умовами згідно з рекомендаціями виробника (Fermentas, Литва). У результаті реакції рестрикції отримували фрагменти ДНК, які відповідають певним генотипам (табл. 2).

### 1. Програми ПЛР ампліфікації ПЛР генетичних локусів кандидатних генів продуктивності свиней

Локус	Програма ампліфікації
<i>ACTN1</i>	94 °C 5', 35 × (94 °C 30'', 63 °C 30'', 72 °C 1'), 72 °C 5'
	94 °C 5', 35 × (94 °C 30'', 65 °C 30'', 72 °C 1'), 72 °C 5' *
<i>FSHβ</i>	94 °C 2', 30 × (94 °C 1', 58 °C 1', 72 °C 1'), 72 °C 5'
<i>OPNin6</i>	95 °C 2', 35 × (94 °C 45'', 65 °C 1', 72 °C 2''), 72 °C 7'
<i>PLIN1</i>	95 °C 2', 30 × (95 °C 20'', 58 °C 20'', 68 °C 20''), 68 °C 7'
<i>PLIN2</i>	95 °C 2', 30 × (95 °C 20'', 64 °C 20'', 68 °C 20''), 68 °C 7'

*Примітка.\**- після оптимізації

Аналіз фрагментів рестрикції локусів *ACTN1*, *FSHβ*, *PLIN1* та *PLIN2* виконували за допомогою електрофорезу у 8%-му поліакриламідному гелі, а отримані амплікони локусу *OPNin6* розділяли за допомогою 2%-го агарозного гелю. Візуалізацію виконували після фарбування гелів розчином бромистого етидію в ультрафіолетовому світлі на транслюмінаторі.

### 2. Методичні особливості рестриктного аналізу

Локус	Рестриктаза	Сайт рестрикції (5'→3')	Температура інкубації	Алелі та їх довжина, п.н.
<i>ACTN1</i>	<i>BstEII/Eco9II</i>	G GTNACC	60°C	A: 744+189 B: 933
	<i>BstEII/Eco9II</i>	G GTNACC	60°C	A: 189+74 * B: 263
<i>FSHβ</i>	<i>HaeIII/BsuRI</i>	GG CC	37°C	A: 332+208+84 B: 208+173+159+84
<i>OPNin6</i>	-	-	-	A: 1300 B: 1000
<i>PLIN1</i>	<i>HinII</i>	GR CGYC	58°C	A: 80 G: 44+36
<i>PLIN2</i>	<i>NlaIV</i>	GGN NCC	64°C	C: 115+60 T: 175

*Примітка.\**- після оптимізації.

Для локусу *ACTN1* спочатку була використана авторська методика (за Sailu L.) ДНК-типуння, що виявилася технічно не зручною [4]. Це пов'язано із значною різницею у молекулярній масі отриманих фрагментів рестрикції (933 п.н., 744 п.н. та 189 п.н.), що створює певні складнощі при їх електрофоретичному розділенні та візуалізації, а в деяких випадках призводить і до неможливості точного встановлення генотипу. Великий за молекулярною масою фрагмент, що синтезується внаслідок ПЛР, потребує ДНК-зразків високого ступеня чистоти і нативності, які не завжди вдається отримати, використовуючи експрес-методи

виділення ДНК з біоматеріалу, що дозволяють значно економити ресурси і скоротити термін проведення генотипування. Також мала місце неспецифічна гібридизація олігонуклеотидів, внаслідок чого під час ПЛР синтезувалися неінформативні і неспецифічні послідовності ампліфікованої ДНК. Тому, враховуючи наведені вище факти, нами було вирішено підібрати оптимальну структуру праймерів до поліморфної ділянки гена альфа-актиніну 1 з метою отримання ДНК-продукту меншої молекулярної маси. Для цього з міжнародної електронної бази даних «GenBank» [12] була взята послідовність первинної структури гена *ACTN1*, за допомогою програми FastPCR 6.0 [13] було сконструйовано ряд олігонуклеотидних послідовностей, що в подальшому дало змогу підібрати оптимальну пару праймерів, з урахуванням ступеня гомології структури прямого і зворотного праймерів для запобігання ДНК-ДНК гібридизації та неспецифічного їх випалювання. Оптимальна структура реверсного праймеру дозволила скоротити довжину синтезованого в ПЛР фрагменту з 933 п.н. до 263 п.н. (табл. 2).

Враховуючи, що структура підбраного реверсного праймера відрізняється від попереднього за своїм кількісним та якісним складом, виникла необхідність у зміні режиму програми ампліфікації – підбору оптимальної температури для етапу випалювання олігонуклеотидних послідовностей. Використовуючи різні підходи до розрахунку температури випалювання праймерів, ми отримали показник, що знаходився в межах 70–72°C [14, 15]. Однак розрахована температура не завжди є оптимальною для конкретної ПЛР і на практиці потребує емпіричного корегування. Для нашого випадку експериментальним шляхом було встановлено, що оптимальним температурним режимом етапу випалювання олігонуклеотидів є 65°C (табл. 1). Оскільки внаслідок заміни реверсного праймера зменшилася молекулярна маса ПЛР-продукту, що знайшло своє відображення у суттєвому зменшенні розмірів рестриктів, то виникла необхідність оптимізації процесу електрофоретичного розділення фрагментів *Eco9II*-рестрикції. Для свого дослідження ми обрали 8%-вий поліакриламідний гель довжиною 10 см.

Статистичний аналіз отриманих результатів виконували за допомогою загальноприйнятих методів з використанням комп'ютерних програм «GenAnalysisQTL v.1.0», «Statistica 5.0», «Gen Alex 6.0» та «Excel 10.0» [16, 17].

**Результати досліджень.** Генетико-популяційні дослідження показали, що всі використані у роботі маркерні системи є поліморфними. Рівень поліморфності суттєво варіював залежно від обраного локусу, породної приналежності піддослідних свиней та особливості селекційно-племінної роботи в стадах.

Аналізуючи характер розподілу частот алелів, варто зазначити, що достовірна різниця за критерієм Фішера була виявлена за локусом *OPNin6* між вибірками свиней ландрас та полтавська м'ясна ( $\leq 0,05$ ), а за геном альфа актиніну-1 між великою чорною та полтавською м'ясною породами ( $p \leq 0,001$ ) (табл. 3).

Розподіл генотипів за локусом *FSH $\beta$*  в усіх піддослідних свиней не мав вірогідних відмінностей, здебільшого тварини виявилися носіями генотипу AA, в той час як особини альтернативного гомозиготного генотипу BB зустрічалися поодинокі.

Майже у всіх випадках очікувана гетерозиготність переважала фактичну, як свідчення існування помірного інбридингу, що характерне для замкнених штучних популяцій (якими є селекційні стада). Перевищення значення фактичної гетерозиготності над очікуваною може свідчити про надмірне кросування тварин або про завезення кнурів із інших господарств для запобігання інбридингу.

Аналізуючи характер розподілу частот генотипів за *PLIN* локусами (табл. 4), варто зазначити, що у експериментальній вибірці свиней великої білої породи виявлені вірогідні відмінності від теоретично очікуваних розподілів згідно закону Харді-Вайнберга за обома поліморфними сайтами гену периліпіну (*PLIN1*,  $p \leq 0,001$ ; *PLIN2*,  $p \leq 0,01$ ), тоді як для свиней миргородської породи така закономірність була показана лише для 7966 T>C поліморфізму *PLIN2* ( $p \leq 0,001$ ). За *PLIN2* сайтом частка тварин-носіїв СТ-генотипу була суттєво меншою, ніж у популяції тварин миргородської породи, в якій особин ТТ виявлено не було. Очевидно, це пов'язано з різними напрямками продуктивності цих порід.

Характер розподілу частот алелів по *PLIN1* був збалансованим із незначним переважанням у вибірці тварин миргородської породи алеля А (0,582) і алеля G (0,587) у особин великої білої породи. Для обох досліджених нами порід свиней, частота алеля С (0,633 і 0,620 відповідно) фрагменту гена *PLIN2* в значній мірі переважала частоту альтернативного алеля Т (0,367 и 0,380), що може бути зумовлено його асоціацією з небажаною осаленістю туш та зниженими показниками середньодобових приростів молодняку на відгодівлі.

### 3. Популяційно-генетичні особливості порід за генами *ACTN1*, *FSHβ*, *OPNin6*

Порода	Частоти					Гетерозиготність		F <sub>is</sub>
	Генотипів (фактична/очікувана)			Алелів		H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	
	AA	AB	BB	A	B			
<i>OPNin6</i>								
Ландрас	0,235 (0,105)	0,176 (0,438)	0,588 (0,457)	0,324	0,676 <sup>*a</sup>	0,176	0,438	0,597
Полтавська м'ясна	0,040 (0,002)	0,000 (0,080)	0,960 (0,918)*	0,042	0,958 <sup>*a</sup>	0,000	0,080	1,000
Велика чорна	0,060 (0,023)	0,180 (0,255)	0,760 (0,723)*	0,150	0,850	0,180	0,255	0,294
Велика біла×ландрас	0,273 (0,074)	0,000 (0,397)	0,727 (0,529)***	0,273	0,727	0,000	0,397	1,000
Велика біла	0,065 (0,004)	0,000 (0,122)	0,935 (0,874)**	0,065	0,935	0,000	0,122	1,000
Миргородська	0,000 (0,019)	0,273 (0,236)	0,727 (0,746)	0,136	0,864	0,273	0,236	-0,158
<i>ACTN1</i>								
Ландрас	0,529 (0,498)	0,412 (0,415)	0,059 (0,086)	0,706	0,294	0,471	0,415	-0,133
Полтавська м'ясна	0,290 (0,271)	0,460 (0,499)	0,250 (0,229)*	0,521	0,479 <sup>***a</sup>	0,458	0,499	0,082
Велика чорна	0,960 (0,961)	0,040 (0,039)	0,000 (0,001)*	0,980	0,020 <sup>***a</sup>	0,040	0,039	-0,020
Велика біла×ландрас	0,545 (0,597)	0,455 (0,351)	0,000 (0,052)	0,773	0,227	0,455	0,351	-0,294
Велика біла	0,391 (0,322)	0,369 (0,488)	0,240 (0,180)	0,576	0,424	0,370	0,488	0,243
Миргородська	0,455 (0,465)	0,455 (0,434)	0,090 (0,101)	0,682	0,318	0,455	0,434	-0,048
<i>FSHβ</i>								
Ландрас	0,412 (0,312)	0,294 (0,493)	0,294 (0,194)	0,559	0,441	0,294	0,493	0,404
Полтавська м'ясна	0,670 (0,627)	0,250 (0,329)	0,080 (0,043)	0,792	0,208	0,250	0,330	0,242
Велика чорна	0,600 (0,548)	0,280 (0,385)	0,120 (0,068)	0,740	0,260	0,280	0,385	0,272
Велика біла×ландрас	0,909 (0,911)	0,091 (0,087)	0,000 (0,002)	0,955	0,045	0,091	0,087	-0,048
Велика біла	0,565 (0,612)	0,435 (0,340)	0,000 (0,047)	0,783	0,217	0,435	0,340	-0,278
Миргородська	0,636 (0,669)	0,364 (0,298)	0,000 (0,033)	0,818	0,182	0,364	0,298	-0,222

**Примітка.** H<sub>o</sub> – фактична гетерозиготність; H<sub>e</sub> – очікувана гетерозиготність; F<sub>is</sub> – індекс фіксації Райта;

\*- p ≤ 0,05, \*\* - p ≤ 0,01, \*\*\* - p ≤ 0,001 (критерій достовірності різниці Фішера, критерій  $\chi^2$ )

Наявне у вибірках свиней великої білої породи по *PLIN1* і *PLIN2* та миргородської по *PLIN1* відхилення від очікуваного розподілу генотипів відбувається за рахунок переважання гомозигот, що вказує на існування інбредних особин і використання обмеженого числа плідників в експериментальних стадах, оскільки цілеспрямований відбір тварин за цими маркерами не проводився. Не виключено, що встановлені популяційні особливості можуть вказувати на існування невідомих плейотропних ефектів гену периліпіну, який може виступати в якості маркера досліджуваних нами відгодівельних якостей свиней. Побічно про це може свідчити відсутність гомозиготних особин ТТ миргородської породи за сайтом *PLIN2* і статистично достовірне переважання фактичної кількості гетерозигот у порівнянні з розподілом СТ генотипів у вибірці свиней великої білої породи ( $p \leq 0,05$ ). Варто відмітити негативне значення фіксаційного коефіцієнту для миргородської породи за *PLIN2*, що є відображенням надлишкової кількості гетерозиготних особин та може бути пояснено аутбредним підбором батьківських пар або використанням генеалогічно неспоріднених плідників для даного стада.

#### 4. Популяційно-генетичні особливості порід у відношенні локусів *PLIN1* і *PLIN2*

Порода	Частоти					Гетерозиготність		$F_{is}$
	Генотипів (фактична/очікувана)			Алелів		Ho	He	
	AA	AG	GG	A	G			
<i>PLIN1</i>								
Миргородська	0,388/0,338	0,388/0,487	0,224/0,175	0,582	0,418	0,388	0,487	0,203
Велика біла	0,304/0,171	0,218/0,485	0,478/0,345***	0,413	0,587	0,217	0,485	0,552
<i>PLIN2</i>								
	CC	CT	TT	C	T	Ho	He	$F_{is}$
Миргородська	0,265/0,400	0,735/0,465	0,000/0,135***	0,633	0,367	0,735	0,465	-0,581
Велика біла	0,478/0,384	0,283/0,471	0,239/0,145**	0,620	0,380	0,283	0,471	0,401

**Примітка.** Ho – фактична гетерозиготність; He – очікувана гетерозиготність;  $F_{is}$  – індекс фіксації Райта; \*\* -  $p \leq 0,01$ , \*\*\* -  $p \leq 0,001$  (критерій  $\chi^2$ )

Встановлений вірогідний вплив генотипів за *PLIN1* і *PLIN2* поліморфними сайтами на показник товщини шпику у свиней миргородської та великої білої порід ( $p \leq 0,001$ ) (табл. 5). Сила впливу 4119 A>G і 7966 T>C генотипів на формування досліджуваної ознаки для свиней миргородської породи склала 59,7% і 36,3%, відповідно. Для вибірки тварин великої білої породи показана вірогідна асоціація генотипів *PLIN1* і *PLIN2* з показником товщини шпику (для *PLIN1* - \*\* -  $p \leq 0,01$ , для *PLIN2* - \* -  $p \leq 0,05$ ), а сила впливу склала 27,7% (4119 A>G) і 22,7% (7966 T>C) відповідно.

Стосовно показника середньодобових приростів свиней, для жодної з досліджених порід статистично значущих закономірностей впливу генотипів *PLIN1* і *PLIN2* на розвиток ознаки з використанням методів варіаційної статистики виявити не вдалось. Не виключено, що відсутність такого зв'язку може бути пояснена не стільки породними особливостями тварин української селекції, скільки недосконалою системою виміру середньодобових приростів в умовах контрольної відгодівлі, оскільки значення статистичної похибки було доволі вагомим. Так, для молодняку миргородської породи, значення статистичних похибок виміру середньодобових приростів тварин, диференційованих за *PLIN1* генотипами, коливалось в межах 24,97–41,55 г, а для великої білої 31,23–57,52 г.

Отже, в результаті проведених дослідів ми підтвердили значення генетичної поліморфної системи гена периліпіну для селекції свиней, спрямованої на зменшення осаленості туш. При цьому вплив досліджених SNP's гена периліпіну на показник товщини шпику виявився статистично вірогідним і практично не залежав від породної приналежності.

Виявлено високовірогідну асоціацію локусу *FSHβ* з показником «об'єм еякуляту» у кнурів великої білої породи популяції ПЗ «Калитянський свинокомплекс», а сила впливу гена на цей показник склала 36%. Найвищі показники об'єму еякуляту були відмічені у

тварин, гомозиготних за алелем А, що суперечить літературним даним [4]. У відношенні інших локусів достовірних даних щодо асоціацій генотипів з окремими показниками відтворювальної здатності не виявлено.

**5. Показники мінливості відгодівельних якостей свиней різних генотипів за поліморфізмами гена периліпіну**

Показники продуктивності	Миргородська порода			
	PLIN1			D <sup>2</sup> , %
	AA	AG	GG	
	X ± Sx	X ± Sx	X ± Sx	
Товщина шпигу на рівні VI-VII грудних хребців, мм	33,05 ± 0,51	29,72 ± 1,13	36,36 ± 0,49***	59,7
Середньодобовий приріст, г	737,89 ± 24,97	743,06 ± 29,88	705,82 ± 41,55	1,5
PLIN2				
	TT	CT	CC	
	X ± Sx	X ± Sx	X ± Sx	
Товщина шпигу на рівні VI-VII грудних хребців, мм	-	31,26 ± 0,69	36,08 ± 0,46***	36,3
Середньодобовий приріст, г	-	740,86 ± 20,31	709,92 ± 36,67	1,3
Велика біла порода				
	PLIN1			D <sup>2</sup> , %
	AA	AG	GG	
	X ± Sx	X ± Sx	X ± Sx	
Товщина шпигу на рівні VI-VII грудних хребців, мм	27,69 ± 2,44	26,14 ± 3,55	36,91 ± 1,74**	27,7
Середньодобовий приріст, г	740,43 ± 44,48	900,00 ± 57,52	848,11 ± 31,23	2,3
PLIN2				
	TT	CT	CC	D <sup>2</sup> , %
	X ± Sx	X ± Sx	X ± Sx	
Товщина шпигу на рівні VI-VII грудних хребців, мм	27,04 ± 3,19	27,75 ± 2,77	36,48 ± 1,81*	
Середньодобовий приріст, г	722,64 ± 45,85	872,92 ± 56,58	851,25 ± 31,08	12,6

**Примітка.** \*\*\* - p ≤ 0,001, \*\* - p ≤ 0,01, \* - p ≤ 0,05, за критерієм достовірності Фішера, D<sup>2</sup> – показник сили впливу

Головна ідея проведення дослідження з пошуку міжлокусних асоціацій між кандидатними генами відгодівельних та репродуктивних якостей полягала у статистичному прогнозуванні імовірності існування негативних ефектів фізично не зчеплених, функціонально альтернативних генів при селекції тварин за даними молекулярно-генетичного тестування. Адже, виключення можливих ризиків негативного впливу добору тварин за генотипами периліпінового локусу на рівень їх фертильності і навпаки створить передумови щодо можливості впровадження розроблених маркерних систем у практику вітчизняної маркерної селекції. Крім цього, виявлення стійких асоціацій генів може слугувати додатковим критерієм породоспецифічності та консолідованості досліджуваного масиву тварин, а отже прогнозування рівня селекційного ефекту від застосування елементів маркер-асоційованої селекції в окремих референтних стадах.



**6. Показники мінливості відтворювальних якостей кнурів великої білої породи у відношенні різних генотипів за генами *OPNin6*, *ACTN1* та *FSHβ***

Показник	<i>OPNin6</i>			D <sup>2</sup> , %
	AA <i>X ± Sx</i>	AB <i>X ± Sx</i>	BB <i>X ± Sx</i>	
Концентрація сперми	200,0±13,9	184,6±29,1	224,1±17,1	8,89
Об'єм еякуляту	260,0±67,7	343,8±40,6	277,3±24,6	11,39
	<i>ACTN1</i>			
Концентрація сперми	215,4±20,8	206,5±21,2	187,5±5,3	2,24
Об'єм еякуляту	264,3 ±49,8	325,0±31,1	287,5±42,7	6,74
	<i>FSHβ</i>			
Концентрація сперми	211,0±15,7	198,8±22,5	-/-	0,96
Об'єм еякуляту	342,9±29,6	230±22,6**	-/-	36,19

**Примітка.**\*\* -  $p \leq 0,01$ , за критерієм достовірності Фішера, D<sup>2</sup> – показник сили впливу

Отримані нами дані показують (табл. 7), що у популяції свиней великої білої породи існують достовірні асоціації між маркерами незалежних фізично незчеплених менделівських генів (*PLIN1-ACTN1* і *PLIN2-ACTN1*), алелі яких корелюють з селекціонованими кількісними ознаками продуктивності свиней. На жаль, жодної міжгенної асоціації для вибірки тварин миргородської породи не було виявлено.

**7. Міжлокусні асоціації у популяціях великої білої і миргородської порід свиней**

Пари локусів	Коефіцієнт асоціації Пірсона, Ф	
	Велика біла порода, n=67	Миргородська порода, n=49
<i>PLIN1-ACTN1</i>	0,246**	-
<i>PLIN1-OPNin6</i>	-	-
<i>PLIN1- FSHβ</i>	-	-
<i>PLIN2-ACTN1</i>	0,249**	-
<i>PLIN2-OPNin6</i>	-	-
<i>PLIN2- FSHβ</i>	-	-

**Примітка.**\*\*  $p < 0,01$ , критерій  $\chi^2$

Це свідчить про проходження процесів генетичного дрейфу внаслідок аутбридингу у даній мікропопуляції, оскільки у проаналізованій вибірці тварин відгодівельного поголів'я зустрічалися представники новостворюваної лінії Маркіза (із покращеними відгодівельними якостями), а також не виключена присутність помісних свиней різної доли кровності. На отриманий результат також вплинула обмеженість чисельності вибірки, що була доступна для проведення молекулярно-генетичного, статистичного та популяційного аналізу.

Наявність асоціації *PLIN1-ACTN1* може бути пов'язана із впливом обох генів на інтенсивність росту свиней – перший із них контролює жировий обмін, а інший входить до каскаду генів-актинінів, що зумовлюють ріст м'язової тканини. Таким чином, характер виявлених міжгенних взаємодій може бути пояснений наявністю полімерії неалельних генів *PLIN1-ACTN1* та плейотропних ефектів саме для *ACTN1* локусу, оскільки він впливає одночасно на показники відгодівельних і репродуктивних якостей. Природне явище виникнення міжлокусних асоціацій, або нерівноваги за зчепленням, є недостатньо дослідженим і мультифакторіальним. Якщо у природних популяціях воно є наслідком мутацій, міграцій, генетичного дрейфу, а також залежить власне від їх ефективної

чисельності, то в штучних мікропопуляціях (стадах сільськогосподарських тварин) переважаючою причиною створення і збереження у часі стійких міжгенних комплексів є жорсткий добір тварин за певною кількісною ознакою.

Варто зазначити, що асоціації досліджуваних генетичних маркерів поліморфних систем, очевидно, повинні бути представлені і в інших популяціях свиней, що підлягають інтенсивному тиску відбору.

**Висновки.** На основі проведеної оцінки особливостей популяційно-генетичної структури свиней вітчизняних порід за поліморфними локусами чотирьох кандидатних генів з метою раннього прогнозування потенціалу продуктивності племінних кнурів запропоновано систему їх комплексної оцінки для підвищення репродуктивних якостей та зниження товщини шпику. Найбільш оптимальними варіантами генотипів за досліджуваними локусами вважаємо наступні: *FSHβAAOPNin6ВВАСТN1ABPLIN1AGPLIN2СТ*. Запропонований методичний підхід може бути використаний у програмах із збереження малочисельних порід свиней у колекційних стадах з метою підвищення ефективності селекції на чистопородній основі, підвищення рівня конкурентоспроможності та підтримки оптимального рівня генетичної різноманітності.

### БІБЛІОГРАФІЯ

1. Нор, В. Ю. Поліморфна система периліпінового гену у селекційних програмах по покращенню відгодівельних якостей свиней / В. Ю. Нор, О. І. Метлицька // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2014. – № 3. – Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Nd\\_2014\\_3\\_3.pdf](http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Nd_2014_3_3.pdf).
2. Rohrer, G. A. Mapping the  $\beta$  subunit of follicle stimulating hormone (FSHB) in the porcine genome / G. A. Rohrer, L. J. Alexander, C. W. Beattie // Mammalian genome. – 1994. – № 5. – P. 315–317.
3. Length polymorphism in an intron of the porcine osteopontin (SPP1) gene is caused by the presence or absence of a SINE (PRE-1) element / A. Knoll, A. Stratil, S. Čepica, J. Dvorak // Animal genetics. – 1999. – № 30. – P. 462–478.
4. Cailu, L. Candidate gene analysis for loci affecting sperm quality and fertility of boar: dr. agricultural sci. diss. / L. Cailu. – Bonn, 2005. – 216 p.
5. A genome scan reveals QTL for growth, fatness, leanness and meatquality in a Duroc-Pietrain resource population / G. Liu, D. G. J. Jennen, E. Tholen, H. Juengst, T. Kleinwachter, M. Holker, D. Tesfaye, G. Un H.-J. Schreinemachers, E. Murani, S. Ponsuksili, J.-J. Kim, K. Schellander, and K. Wimmers // Animal Genetics. – № 38. – 2007. – P. 241–252.
6. Detection of novel SNP's and mapping of the fatness QTL on pig chromosome 7q1.1–1.4 region / W. H. Huang, Z. X. Ma, Z. Y. Xu, Y. Z. Xiong and B. Zuo // Genetics and Molecular Research. – № 10 (4). – 2011. – P. 3090–3097.
7. Świtoński, M. Searching for genes controlling fatness traits in pigs – a review / Marek Świtoński, Agata Chmurzyńska, Mariusz Maćkowski // Animal Science Papers and Reports. – № 21. – 2003. – P. 73–86.
8. Vykoukalova, Z. Porcine perilipin (PLIN) gene: Structure, polymorphism and association study in Large White pigs / Z. Vykoukalova, A. Knoll, S. Čepica // Czech J. Anim. Sci. – 2009. – № 54. – P. 359–364.
9. 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.
10. Корінний, С. М. Шерсть тварин, як зручний об'єкт виділення ДНК для аналізу за допомогою ПЛР / С. М. Корінний, К. Ф. Почерняєв, В. М. Балацький // Ветеринарна біотехнологія. – Київ, 2005. – № 7. – С. 80–83.
11. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование: Пер. с англ. / Т. Маниатис, Э. Фрич, Д. Сембрук ; под ред. А. А. Баева. – М. : Мир, 1984. – 479 с.
12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/5660686>

13. <http://primerdigital.com/fastpcr.html>
14. Бантинг, Г. Анализ генома. Методы: Пер. с англ. / Г. Бантинг, Ч. Кантор, Ф. Коллинз ; под ред. К. Дейвиса. – М. : Мир, 1990. – 248 с.
15. <http://www.bio.bsu.by/molbiol/oligocalc.html>
16. Peakall, R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, and P. E. Smouse // *Molecular Ecology Notes*. – 2006. – Vol. 6. – P. 288–295.
17. Kramarenko, S. S. Genetic variation of the quantitative shell traits of the land snails genus *Brephulopsis* (enidae), intermediate host of trematoda / S. S. Kramarenko, A. O. Bondar // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*. – Львів, 2010. – Т. 12. – № 4 (46). – С. 221–224.

## REFERENCES

1. Nor, V. Yu., and O. I. Metlyts'ka. 2014. Polimorfna sistema perylipinovoho henu u selektsiynykh prohramakh po pokrashchennyu vidhodivel'nykh yakostey svynei – Polymorphic system perylipinovoho gene in breeding programs to improve the quality of fattening pigs. *Naukovi dopovidi Natsional'noho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannya Ukrainy – Scientific reports of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*. Rezhyim dostupu: [http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Nd\\_2014\\_3\\_3.pdf](http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Nd_2014_3_3.pdf). (in Ukrainian).
2. Rohrer, G. A., L. J. Alexander, and C. W. Beattie. 1994. Mapping the  $\beta$  subunit of follicle stimulating hormone (FSHB) in the porcine genome. *Mammalian genome*. 5:315–317.
3. Knoll, A. A. Stratil, S. Čepica, and J. Dvorak. 1999. Length polymorphism in an intron of the porcine osteopontin (*SPPI*) gene is caused by the presence or absence of a SINE (PRE-1) element *Animal genetics*. 30:462–478.
4. Cailu, L. 2005. *Candidate gene analysis for loci affecting sperm quality and fertility of boar: dr. agricultural sci. diss.* Bonn, 216.
5. Liu, G. D., G. J. Jennen, E. Tholen, H. Juengst, T. Kleinwachter, M. Holker, D. Tesfaye, G. Un, H.-J. Schreinemachers, E. Murani, S. Ponsuksili, J.-J. Kim, K. Schellander, and K. Wimmers. 2007. A genome scan reveals QTL for growth, fatness, leanness and meatquality in a Duroc-Pietrain resource population. *Animal Genetics*. 38:241–252.
6. Huang, W. H., Z. X. Ma, Z. Y. Xu, Y. Z. Xiong and B. Zuo. 2011. Detection of novel SNP's and mapping of the fatness QTL on pig chromosome 7q1.1–1.4 region. *Genetics and Molecular Research*. 10 (4):3090–3097.
7. Świtoński, M., A. Chmurzyńska, and M. Maćkowski. 2003. Searching for genes controlling fatness traits in pigs – a review. *Animal Science Papers and Reports*. 21:73–86.
8. Vykoukalova, Z., A. Knoll, S. Čepica. 2009. Czech J. Porcine perilipin (*PLIN*) gene: Structure, polymorphism and association study in Large White pigs. *Anim. Sci*. 54: 359–364.
9. Walsh, P. S., D. A. Metzger, and R. Higuchi. 1991. Chelex-100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material. *BioTechniques*. 10: 506.
10. Korinnyy, S. M., K. F. Pochernyayev, and V. M. Balats'kyi. 2005. Sherst' tvaryn, yak zruchnyy ob'yekt vydilennya DNK dlya analizu za dopomohoyu PLR. *Veterynarna biotekhnolohiya*. Kyiv. 7:80–83 (in Ukrainian).
11. Maniatis, T., Je. Fritch, D. Sembruk; pod red. A. A. Baeva. 1984. *Molekuljarnoe klonirovanie: Per. s angl.* M., Mir. 479 (in Russian).
12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/5660686>
13. <http://primerdigital.com/fastpcr.html>
14. Banting, G., Ch. Kantor, and F. Kollinz; pod red. K. Dejvisa. 1990. *Analiz genoma. Metody: Per. s angl.* M., Mir. 248 (in Russian).
15. <http://www.bio.bsu.by/molbiol/oligocalc.html>
16. Peakall, R., and P. E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6:288–295.

17. Kramarenko, S. S., and A. O. Bondar. 2010. Genetic variation of the quantitative shell traits of the land snails genus *Brephulopsis* (enidae), intermediate host of trematoda. *Naukovyj visnyk L'vivs'koho natsional'noho universytetu veterynarnoyi medytsyny ta biotekhnolohiy imeni S.Z. Hzhys'tkoho*. L'viv, 12, 4(46):221–224.

---

УДК 636.2.082.2:575.22

## ТЕОРЕТИЧНА МОДЕЛЬ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ГАМЕТ І ГЕНОТИПІВ ТВАРИН В ПОРОДІ, ПОПУЛЯЦІЇ

---

**І. П. ПЕТРЕНКО**

*Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)*

*Проведено теоретичний аналіз ймовірного утворення генетичної структури та мінливості гамет і генотипів тварин в скотарстві за кількісним поєднанням («+» і «-» А.Г.П.А.) хромосом (гаплотипів) при нульовому рівні (0 %) консолідації їх спадковості і побудовано відповідні гістограми закономірностей їх розподілу в генофонді породи, популяції.*

**Ключові слова:** гомологічні хромосоми, генетична структура гамет і генотипів тварин, мінливість, адитивний генетичний потенціал активності («+» і «-» А.Г.П.А.) хромосом, генофонд породи, популяції, «адитивні ряди» хромосом

## THEORETICAL MODEL OF GENETIC STRUCTURE OF GAMETES AND ANIMAL GENOTYPES IN BREED, POPULATION

**I. P. Petrenko**

*Institute of Animal Breeding and Genetics nd. a M.V.Zubets of NAAN (Chubynske, Ukraine)*

*The theoretical analysis of the probabilistic formation of genetic structure and variability of gametes and animal genotypes in cattle breeding on the quantitative unity (“+” and “-” A.G.P.M.) of chromosomes (haplotypes) for zero level (0 %) consolidation their heredity and the appropriate histograms of the normally distribution in genofond of breed, population have been analised.*

**Key words:** homological chromosomes, genetic structure of gamete and animal genotypes, diversity, additive genetic potential activity («+» and «-» A.G.P.M.) chromosomes, genofond of breed, population, «additive ranks» of chromosomes

## ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ГАМЕТ И ГЕНОТИПОВ ЖИВОТНЫХ В ПОРОДЕ, ПОПУЛЯЦИИ

**И. П. Петренко**

*Інститут розведення і генетики животнох імені М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)*

*Проведен теоретический аналіз вероятностного образования генетической структуры и изменчивости гамет и генотипов животнох в скотоводстве по количественной сочетаемости («+» и «-» А.Г.П.А.) хромосом (гаплотипов) при нулевом уровне (0 %) консолидации их наследственности и построены соответствующие гистограмы закономірностей их распределения в генофонде породи, популяції.*

**Ключевые слова:** гомологические хромосомы, генетическая структура гамет и генотипов животнох, изменчивость, адитивный генетический потенциал активности