

S.N. Marzanova<sup>1</sup>, D.A. Devrishov<sup>1</sup>, I.S. Turbina<sup>1</sup>, V.A. Nagorny<sup>1</sup>, Ya.I. Alekseev<sup>2</sup>,  
N.V. Konovalova<sup>2</sup>, D.G. Sochivko<sup>2</sup>, P. I. Liutskanov<sup>3</sup>, M.Kh. Tokhov<sup>4</sup>, N.S. Marzanov<sup>4</sup>

*The Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after  
K.I. Skriabin<sup>1</sup>*

*State Scientific Institution All-Russian Scientific Research Institute of Agricultural  
Biotechnology, Agricultural Academy of Russia, Closed Joint Stock Company «SINTOL»<sup>2</sup>  
Scientific and Practical Institute of Biotechnology in Animal Husbandry and Veterinary  
Medicine, Academy of Sciences of Moldova<sup>3</sup>*

*State Scientific Institution All-Russian Scientific Research Institute of Animal of  
Agricultural Academy of Russia<sup>4</sup>*

*The article presents short characteristics of DNA isolation method developments hereditary disease mutant allele ascertainment, particularly a vertebral anomalies complex and CV allele in Black-and-White cattle bred in Russia. Analysis of semen and blood of 488 animals in different regions of the Russian Federation on mutant CV allele ascertainment has shown that heterozygous mutation carriers are 10 animals or 2,0%, and 478 units or 98,0% have appeared to be normal-genotype animals.*

**Key words: PCR-RT, CVM, cattle, allele**



УДК 636.2.082:575.113.1

## **ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЯК ОБҐРУНТУВАННЯ ШЛЯХІВ ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНОФОНДУ СВИНЕЙ МИРГОРОДСЬКОЇ ПОРОДИ**

**О.І. МЕТЛИЦЬКА<sup>1</sup>, В.Ю. НОР<sup>2</sup>**

*Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)<sup>1</sup>*

*Інститут свинарства і АПВ НААН (Полтава, Україна)<sup>2</sup>*

*metlitska@mail.ru, maestropoltava@rambler.ru*

*Проведено популяційно-генетичний аналіз свиней миргородської породи із застосуванням сучасних ДНК-технологій. За використання ISSR-праймерів визначено*

© О.І. Метлицька, В.Ю. Нор, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

породоспецифічні маркери розміром 3500 та 460 п.н. Існування спільного фрагмента розміром 370 п.н. у тварин порід миргородська і п'єтрен може бути свідченням метизації локальної української породи. Вплив генотипу іншої породи на структуру популяції миргородських свиней підтверджується від'ємним значенням коефіцієнта фіксації для особин досліджуваної вибірки, який становив ( $-0,692$ ) за поліморфним сайтом *PLIN2* (g.7966T>C) гена периліпіну. Наявність поліморфізму гена *PLIN* у популяції свиней миргородської породи та висока частота розповсюдження алелів, асоційованих зі зниженою осаленістю туш, створюють передумови для використання цього маркера у селекційних програмах. Оцінювання напряму генетичних процесів у популяції свиней миргородської породи є основою наукового обґрунтування стратегій щодо усунення негативних наслідків метизації та раціонального використання генофонду місцевої української породи.

**Ключові слова:** миргородська порода свиней, ISSR-ПЛР, поліморфізм гена периліпіну, ідентифікаційні маркери породи

**Введення.** Сучасні тенденції розвитку галузі свинарства, спрямовані на збільшення м'ясної продуктивності, скоростиглості та зниження конверсії корму при збереженні рівня відтворення, є суттєвою загрозою для існування місцевих порід, що не відповідають вимогам ринку, проте характеризуються унікальними адаптаційними властивостями і специфічністю генофонду.

Однією з унікальних локальних порід свиней України вважається миргородська, що наразі перебуває на межі зникнення.

Кожна порода сільськогосподарських тварин є категорією історичною, оскільки з часом змінюються вимоги людини до породних характеристик та рівня продуктивного потенціалу. Аборигенні породи, не зважаючи на наявність надзвичайних пристосувальних можливостей і невибагливості до умов утримання внаслідок їхнього тривалого формування в специфічних екологічних зонах, виявляються неконкурентоспроможними згідно з вимогами сучасної ринкової економіки, а відтак чисельність їх різко скорочується.

Миргородську породу виведено шляхом складного відтворного схрещування місцевих українських чорно-рябих свиней з тваринами беркширської, середньої білої та темворської порід [1], в окремих випадках використовувалося прилиття крові польсько-китайської породи та елементи гібридизації тварин миргородської популяції кнурами великої білої породи за подальшого поглинального схрещування і розведення помісних свиней «у собі» [2]. Ця порода формувалася в жорстких умовах утримання й годівлі, в результаті чого було отримано невибагливі швидкостиглі тварини з високим рівнем резистентності та стійкості до стресових факторів. У 1940 р. масив миргородських свиней був затверджений як нова порода [3].

Миргородську породу свиней розводять методом напіввідкритої популяції при збереженості в чистоті племінного ядра. Для зниження осаленості туш молодняку на відгодівлі використовують систему схрещування цих тварин з представниками м'ясних порід, переважно дюрок, велика біла і п'єтрен. У

системі схрещування і гібридизації та створенні нових порід миргородську використовують як материнську форму. Нині розводять миргородську породу свиней у двох племінних заводах у Полтавській та Волинській областях, де зосереджено 4567 гол., та двох племрепродукторах Хмельницької і Сумської областей – 2511 гол. [2, 3].

Миргородську породу свиней занесено ФАО до унікальних зникаючих генотипів завдяки її природним особливостям. Перш за все, миргородська характеризується значною адаптивністю до місцевих умов утримання та високими технологічними характеристиками м'язової тканини (наявність жирових прошарків між м'язами, вологоутримувальна здатність м'яса після забою). Особливості виробництва традиційних для України продуктів – шпикю, сиров'ялених і сирокочених ковбас – створюють передумови щодо збільшення попиту на свинину високої якості від тварин місцевих порід під маркою національного екобренду [3].

Раціональне використання генофонду миргородських свиней відбувається в рамках Державної селекційної програми. Робота з нечисленними популяціями свиней методами класичної індексної селекції не запобігає негативним ефектам інбридингу, тому вимагає використання додаткової надійної генетичної інформації про рівень мінливості та генетичної схожості особин, призначених для репродукції.

Метою даної роботи є визначення генетичних особливостей миргородських свиней на основі сучасних ДНК-технологій для розробки науково обґрунтованих методів збереження і вдосконалення цієї унікальної місцевої породи.

**Матеріали і методи досліджень.** У досліді з генетичного моніторингу порід свиней використовували геномну ДНК високого ступеня нативності Банку ДНК Інституту свинарства і АПВ НААН, виділену з венозної крові сольовим методом [4] від типових представників порід і внутріпородних типів: внутріпородного типу великої білої породи свиней (УВБ-1, 40 гол., УВБ-2, 35 гол., УВБ-3, 15 гол.), миргородської (М, 50 гол.), полтавської м'ясної (ПМ, 50 гол.), української м'ясної (УМ, 30 гол.), ландраса (Л, 30 гол.), породи п'єтрен (П, 10 гол.).

Ампліфікацію ДНК-фрагментів у технології ISSR-ПЛР проводили в термоциклері «Терцик» («ДНК-технологія», Росія) за використання праймерів наступної структури (табл. 1).

### *1. Структура праймерів, використаних для генетичної характеристики свиней*

Назва праймерів	Структура праймерів	Температура випалювання
ISSR-S1	3'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC C-5'	57
ISSR-S2	3'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC G-5'	57
ISSR-S5	3'-ATG ATG ATG ATG ATG ATG C-5'	57
ISSR-UBC 873	3'- GAC AGA CAG ACA GAC A-5'	60

Електрофоретичне розділення отриманих ампліконів виконували в 1×TBE буфері на 1,5%-х агарозних гелях [5] із наступним забарвленням розчином бромистого етидію. Контроль за розміром ДНК-фрагментів здійснювали за допомогою маркера молекулярної маси DNA-Ladder plus («Fermentas», Литва). Основні популяційно-генетичні параметри розраховували за використання пакета стандартних спеціалізованих комп'ютерних програм, призначених для аналізу полілокусних маркерів із множинною локалізацією в геномі: GELSTAT [6] і TREES [7].

Для ДНК-типуння тварин за локусами *PLIN1* та *PLIN2* гена *PLW* використовували метод ПЛР-ПДРФ. ПЛР проводили у стандартній реакційній суміші (Tarotili, Росія) на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-технологія», Росія) за програмою:

95°C – 2 хв; 30 цикл.: 95°C – 20 с; 58°C – 20 с; 68°C – 20 с; 68°C – 7 хв для локусу *PLIN1* та 95°C – 2 хв; 30 цикл.: 95°C – 20 с; 64°C – 20 с; 68°C – 20 с; 68°C – 7 хв для локусу *PLIN2* (табл. 2).

## 2. Структура праймерів для синтезу поліморфних ділянок гена *PLIN* [8]

Назва праймерів	Структура праймерів	Температура випалювання
PLIN1 Forward	5' - CCA GAA GAC CTA CAC CAG CAC - 3'	58°C
PLIN1 Reverse	5' - TCT GGA TGC CCT TCT CGT AA - 3'	58°C
PLIN2 Forward	5' - GAT CTG CTC TCC TTC CCT CC - 3'	64°C, 68°C
PLIN2 Reverse	5' - CTG TTT CAG AGC GCG AGA C - 3'	64°C, 68°C

У результаті ПЛР синтезували фрагменти локусів *PLIN1* розміром 80 п.н. і *PLIN2* розміром 175 п.н., які гідролізували ферментами рестрикції *Hin1I* та *NlaIV* відповідно, за умовами згідно з рекомендаціями виробника («Fermentas», Литва). У результаті реакції рестрикції отримували фрагменти ДНК, які відповідають певним генотипам (табл. 3).

## 3. Фрагменти рестрикції і відповідні їм генотипи за локусами *PLIN1* та *PLIN2*

Локус/фермент рестрикції	Генотипи і відповідні фрагменти рестрикції, п.н.		
<i>PLIN1</i> / <i>Hin1I</i>	AA: 80	AG: 80, 44, 36	GG: 44, 36
<i>PLIN2</i> / <i>NlaIV</i>	TT: 175	CT: 175, 115, 60	CC: 115, 60

**Примітка.** п.н. – пар нуклеотидів.

Аналіз фрагментів рестрикції виконували за допомогою електрофорезу у 8%-му поліакриламідному гелі з використанням маркерів молекулярної маси (*pBR322/BsuR1*). Візуалізацію виконували після фарбування поліакриламідного гелю розчином бромистого етидію в ультрафіолетовому світлі на транслюмінаторі.

Статистичний аналіз даних виконували за допомогою загальноприйнятих методів з використанням стандартної комп'ютерної програми GenAlex 6.0 [9].

**Результати досліджень, їхнє обговорення.** Обмеженість біотехнологій, спрямованих на збереження генофондів локальних порід у їхньому природному ареалі, вимагає пошуку сучасних методологічних підходів до комплексного популяційно-генетичного моніторингу тварин з метою розробки ефективних та економічно виправданих прийомів на основі отриманих даних генетичного аналізу [10,11].

Тривалий час у тваринництві України генотипування тварин з метою встановлення оптимального варіанта підбору та додаткових критеріїв контролю спрямованості селекційних процесів проводили за використання груп крові [12], що дало змогу накопичувати інформацію про динаміку змін популяцій. Проте економічні вимоги сьогодення спрямовані на пошук сучасних малозатратних і зручних методик генетичного аналізу сільськогосподарських тварин на молекулярному рівні.

Вважаємо, що таким вимогам відповідають системи фінгерпринтного аналізу, а саме технологія ISSR (Inter Simple Sequence Repeat).

Обґрунтовано доцільність використання праймерів S1, S2, S5 та UBC 875 для індивідуальної оцінки генетичної мінливості свиней, а також вирішення важливого питання генетичної паспортизації – встановлення унікальних ДНК-фрагментів, властивих лише представникам певної породи. Виявлення таких унікальних ДНК-фрагментів (абсолютних маркерів) у свиней миргородської породи було проблематичним унаслідок використання в процесі філогенезу плідників інших порід для «освіження» крові і покращання технологічних та забійних ознак, що призводить до знищення унікальної генетичної структури та негативно впливає на адаптивні функції, зумовлюючи генетичну схильність до захворювань. Однак тривале розведення племінних тварин «у собі» за жорсткого бракування особин, що не відповідають модельному типу породи, дають можливість отримати популяції з мінімальним рівнем чужорідного генетичного матеріалу і виявити їхні певні особливості на рівні ДНК-аналізу. Таким вимогам відповідав масив свиней, що належали племзаводу ім. Декабристів, тому для своїх досліджень ми використовували тварин даного стада.

За генетичною системою ISSR-S1 був виявлений унікальний ДНК-фрагмент розміром 3500 пар нуклеотидів, притаманний лише тваринам миргородської породи (табл. 4).

Використання праймера S1 також дало змогу ідентифікувати два амплікони розміром 1920 та 660 п.н. у тварин миргородської породи, проте означені фрагменти було ідентифіковано і у великої білої породи, що, безперечно, пояснюється існуванням спільних предків у свиней досліджених популяцій і є підтвердженням історичних даних особливостей їхньої селекції. Тривожним фактом виявилось існування спільного фрагмента розміром 370 п.н. у тварин миргородської і породи п'єтрен, що може бути свідченням наслідків метизації

локальної української породи п'єтренами, які зазвичай використовуються для підвищення м'ясних якостей і конверсії корму молодняка на відгодівлі.

#### 4. Маркерні ДНК-фрагменти порід свиней, найбільш розповсюджених на території України

Маркерна система	Розмір маркерного ДНК-фрагмента, п.н.	Популяція
ISSR-S1 3'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC C-5'	3500 1920 660 370	М УВБ 1,2,3, М УВБ-1, УВБ-2,М М, П
ISSR-S2 3'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC G-5'	1170 460	УВБ-1, М М
ISSR-S5 3'-ATG ATG ATG ATG ATG ATG C-5'	450	УВБ-1, М
ISSR-UBC 875 3'- GAC AGA CAG ACA GAC A-5'	1300 300	ПМ, УМ, Л, П УВБ-3, ПМ, Л

*Примітка.* М – миргородська порода свиней; УВБ-1, 2, 3 – внутріпородні типи великої білої породи свиней місцевої селекції; ПМ – полтавська м'ясна; Л – ланд-рас; УМ – українська м'ясна; П – п'єтрен.

Праймер ISSR-S2 дав можливість виявити ще один ідентифікаційний ДНК-маркер миргородської породи, розмір якого становив 460 п.н.

Ідентичні за встановленими розмірами ДНК-фрагменти у 1170 п.н. зафіксовано у особин миргородської породи та внутріпородного типу УВБ-1, який відселекціонований, як і миргородські свині, у напрямку покращання відтворних ознак. Генетична система, побудована на основі використання тетра-нуклеотидного праймера ISSR-UBC 875, виявилася неінформативною щодо визначення генетичних особливостей миргородських свиней, проте дала змогу встановити амплікони, властиві представникам порід м'ясного напрямку продуктивності.

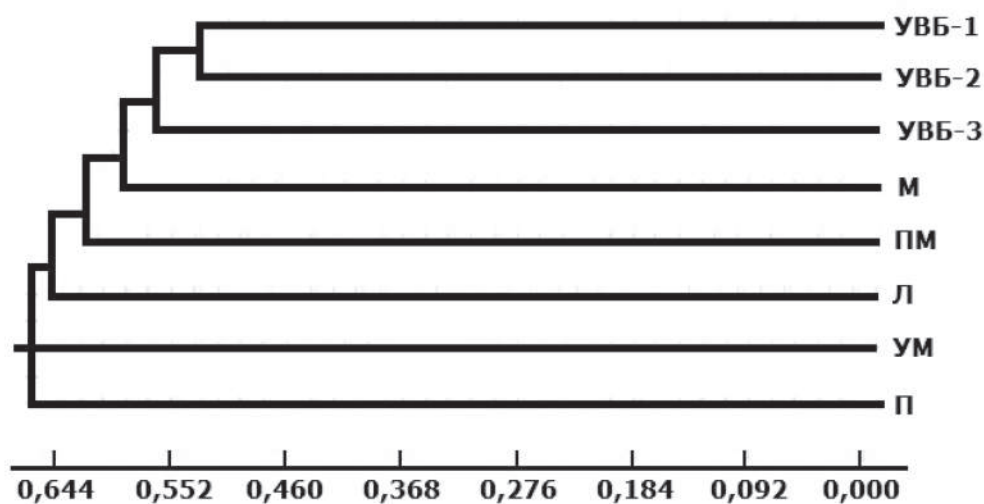
За результатами кластерного аналізу з визначених генетичних дистанцій, розрахованих після проведення генетичного тестування в технології ISSR, побудовано дендрограми, що дали можливість наочно оцінити ступінь генетичної диференціації та історичних зв'язків порівнюваних порід (рисунок).

Структуру дендрограми склав єдиний кластер, сформований переважно тваринами місцевої селекції, за винятком неспорідненої породи п'єтрен.

Положення миргородської породи всередині кластера місцевих порід пояснюється наявністю історичних зв'язків між зазначеними породами та наявністю подібних генетичних комплексів.

Максимальну генетичну дистанцію зафіксовано між миргородською та внутріпородним типом УВБ-1 (0,432), а мінімальну – між миргородською та полтавською м'ясною. Останню було створено за використання миргородської

породи як материнської вихідної форми, що і забезпечило таке розташування кластерних гілок.



### Дендрограма, побудована на основі даних ISSR-типуювання свиней різних порід і популяцій методом UPGMA

Головним недоліком миргородської породи, порівняно з комерційними, вважається надмірна осаленість туш: товщина шпику у підсвинків на відгодівлі сягає 3,5–3,8 мм на рівні 6–7-го хребців, а співвідношення м'ясо : сало становить 1:1,3 [13].

Перспективним підходом для підвищення м'ясних і відгодівельних ознак свиней є використання інформації щодо поліморфізму локусів кількісних ознак [14] при побудові селекційних індексів.

Зарубіжними дослідниками для свиней порід ландрас, дюрк, гемпшир та велика біла було показано вірогідні асоціації між певними генотипами за поліморфними варіантами гена периліпіну й відгодівельними та забійними ознаками. Зазначений зв'язок встановлено для двох сайтів гена периліпіну: *PLIN1* (g.4119A>G) та *PLIN2* (g.7966T>C). Найбільш бажаними генотипами при селекції на м'ясність і збільшення середньодобового приросту є ААТТ, для отримання пісного м'яса в туші зі зменшеною товщиною шпику – АГТС. Небажаними для відбору вважаються тварини з генотипом GGCC [8]. Виявлені закономірності підтверджено нами для свиней великої білої породи місцевої селекції (дані не опубліковано).

Оскільки інформація щодо поліморфізму цих варіантів гена периліпіну може бути використана в селекційних програмах удосконалення миргородської породи, метою наступного етапу досліджень було оцінювання популяційно-генетичних параметрів цих тварин порівняно з такими самими показниками найбільш розповсюдженої великої білої породи та її помісей для встановлення можливості використання *PLIN*-типуювання в селекційному процесі.

Розподіл частот алелів за локусом *PLIN1* у трьох досліджених популяціях суттєво різнився (табл. 2). Популяція свиней великої білої породи більш насичена алелем G (0,587), тоді як тварини миргородської породи є переважно

носіями алеля А (0,591), частка алеля G (0,273) у помісних тварин менша, ніж у тварин інших двох досліджених популяцій, що може бути пов'язано із впливом на генетичну структуру помісних тварин кнурів спеціалізованої м'ясної породи ландрас та ефектом міжпородного гетерозису.

Аналіз характеру розподілу частот алелів за локусом *PLIN2* показав, що популяції свиней великої білої породи та помісних тварин характеризуються високою частотою алеля С (0,620 і 0,773).

### 5. Популяційно-генетична характеристика свиней за поліморфізмами *PLIN1* та *PLIN2* гена периліпіну

Популяція свиней	Частоти алелів		Частоти генотипів			Гетерозиготність		Фіксаційний індекс
Велика біла порода	<i>PLIN1 (g.4119A&gt;G)</i>							
	A	G	AA	AG	GG	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	F
	0,413	0,587	0,171	0,485	0,345***	0,217	0,485	0,552
	<i>PLIN2 (g.7966T&gt;C)</i>							
	C	T	CC	CT	TT	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	F
	0,620	0,380	0,384	0,471	0,145	0,283	0,471	0,401
Помісі велика біла×ландрас	<i>PLIN1 (g.4119A&gt;G)</i>							
	A	G	AA	AG	GG	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	F
	0,727	0,273	0,529	0,397	0,074**	0,545	0,397	-0,375
	<i>PLIN2 (g.7966T&gt;C)</i>							
	C	T	CC	CT	TT	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	F
	0,773	0,227	0,597	0,351	0,052	0,273	0,351	0,224
Миргородська порода	<i>PLIN1 (g.4119A&gt;G)</i>							
	A	G	AA	AG	GG	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	F
	0,591	0,409	0,349	0,483	0,167	0,455	0,483	0,060
	<i>PLIN2 (g.7966T&gt;C)</i>							
	C	T	CC	CT	TT	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	F
	0,591	0,409	0,349	0,483	0,167*	0,818	0,483	-0,692

**Примітка.** H<sub>o</sub> – спостережена гетерозиготність; H<sub>e</sub> – очікувана гетерозиготність; F – індекс фіксації Райта; \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001.

Особливістю розподілу частот алелів у тварин миргородської породи є їхня збалансованість (С – 0,591, Т – 0,409). Суттєвий вплив генотипу іншої породи на структуру популяції свиней миргородської підтверджується від'ємним значенням фіксаційного коефіцієнта, що для особин досліджуваної вибірки становив -0,692 за поліморфним сайтом *PLIN2 (g.7966T>C)* гена периліпіну.

У популяціях свиней великої білої породи та помісей велика біла×ландрас за локусом *PLIN1* і у тварин миргородської породи за поліморфізмом *PLIN2* виявлено достовірне відхилення фактичного розподілу генотипів від очікува-



ного за законом Харді-Вайнберга. Показано, що частка небажаних генотипів GGTT найнижча у популяції помісних свиней (GG – 0,074, TT – 0,052). У тварин породи велика біла частота генотипу GG (0,345) ( $P < 0,001$ ) виявилася найвищою серед досліджених популяцій. У свиней миргородської породи та помісних тварин знайдено суттєві міжлокусні відмінності у показниках фактичної і очікуваної гетерозиготності в межах однієї популяції, що, очевидно, є наслідком нерівноваги за зчепленням цих локусів відносно генів кількісних ознак. Відносно прогнозу ефективності заходів маркерної селекції свиней, спрямованої на зниження осаленості туш та підвищення інтенсивності росту за генотипами гена периліпіну, згідно з даними популяційно-генетичного аналізу стійкого і тривалого ефекту зв'язку генотипу з бажаною ознакою можна очікувати в стадах лише великої білої породи через наявність помірного інбридингу мікропопуляцій (фіксаційні індекси за локусами *PLIN1* та *PLIN2* були 0,552 і 0,401 відповідно) та утворення стійких генних комплексів.

Отже, серед найбільш глобальних проблем сучасності збереження біорізноманіття викликає найбільшу тривогу у зв'язку із різким скороченням чисельності багатьох видів рослин і тварин. Щодо об'єктів сільськогосподарського призначення, ця негативна тенденція стосується здебільшого місцевих аборигенних популяцій, які виявляються неконкурентоспроможними в умовах масової індустріалізації вітчизняного ринку, масового завезення генетично модифікованих сортів рослин із нокаутованими генами подальшої вегетації і тварин зарубіжної селекції невідомої породності та походження, з вадами екстер'єру і конституції, носіями прихованих інфекційних захворювань. Таким чином, виникає реальна загроза скорочення власних генетичних ресурсів сільськогосподарських видів, залежність від імпорту сировини для виробництва продуктів харчування, масове розповсюдження особин, не адаптованих до місцевих кліматичних, екологічних і технологічних умов.

Основоположником ґрунтовної наукової концепції щодо необхідності збереження біорізноманітності рослин і тварин, сучасних уявлень про центри їхньої доместикації та зародження аграрної цивілізації є М.І. Вавилов [15], який наголошував на необхідності мобілізації генетичних ресурсів для селекційних потреб. Кожен біологічний вид сільськогосподарського призначення повинен розглядатися в ракурсі константної компоненти агрокосистем, оскільки стабільність їхнього відтворення пов'язана безпосередньо з генетично зумовленим потенціалом адаптації до умов навколишнього середовища [16, 17].

Головною проблемою збереження генофондів є не тільки утримання чисельності породної різноманітності та ефективного розміру популяцій, але й розробка наукових підходів до підтримання внутріпородної генетичної гетерогенності для запобігання ерозії унікального алельного спектра кожної породи. Дослідження шляхів підтримання генетичної різноманітності, популяризація у світовому масштабі важливості збереження біоресурсів є прерогативою міжнародної продовольчої та сільськогосподарської організації (FAO), створеної при Організації Об'єднаних Націй, що виконує систематизацію інформації про генетичну специфіку свійських тварин [18].

У даній роботі було показано, що використання двох класів — ISSR маркерів у технології міжмікросателітного аналізу та одноклеотидних поліморфізмів (SNP) у ПЛР-ПДРФ аналізі поряд з ідентифікацією унікальних генних комплексів місцевої миргородської породи дало змогу встановити ознаки її метизації тваринами спеціалізованих м'ясних порід, що створює суттєву загрозу втрати її генофонду.

На жаль, на основі діючих морфологічних критеріїв стандарту породи, як основного засобу контролю генеалогії, без підтвердження походження племінних тварин методами імуногенетичного або ДНК-аналізу відрізнити чистопородних свиней від кросбредних практично неможливо. Це призводить до появи у провідних стадах з розведення миргородської породи помісей іншого походження, втрати адаптивних властивостей і значного зниження якості м'ясної продукції від таких тварин. Навіть за умов використання високополіморфних полілокусних генетичних систем ISSR вдалося ідентифікувати лише незначну кількість породоспецифічних ДНК-фрагментів миргородської породи. Це пов'язано з відсутністю інбредних еталонних популяцій генетично однорідних свиней різних порід, у тому числі й миргородських свиней.

Аналогічна ситуація спостерігалася свого часу в Іспанії, де під загрозою повного знищення опинилася іберійська порода свиней. Унаслідок кросування цих тварин з комерційною породою дюрок виготовлення якісного національного продукту хамон виявилось неможливим від отриманих помісей. Лише завдяки збереженню невеликої інбредної популяції іберійських свиней та застосуванню молекулярно-генетичних підходів, що є різновидами ПЛР (RAPD, AFLP, STR), стало можливим виявлення алелів, властивих тваринам породи дюрок, та елімінація їхніх носіїв із стад аборигенної породи [19].

**Висновки.** Отримані дані є спробою оцінювання генетичної ситуації в популяції свиней миргородської породи, впровадження методології ідентифікації чистопородних тварин, використання маркер-асоційованої селекції в стадах для зниження осаленості туш без використання міжпородних схрещувань.

Розробка та впровадження методів молекулярно-генетичної паспортизації племінних тварин необхідні не лише для ефективної племінної роботи з нечисленними породами, але і для оцінювання біологічного матеріалу, призначеного для довготривалого збереження в кріобанках генетичних ресурсів.

**Подяка.** Авторський колектив висловлює щиру подяку завідувачу відділу селекції і генетики Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН кандидату біологічних наук К.Ф. Почерняєву за надану можливість виконання всього обсягу лабораторних робіт та використання Банку ДНК свиней різних порід для проведення порівняльного молекулярно-генетичного аналізу; директору племзаводу ім. Декабристів Миргородського району Полтавської області В.Г. Цибенко за можливість отримання біологічного матеріалу від тварин миргородської породи та надану інформацію щодо їхньої генеалогії; співробітникам лабораторії генетики Хоенхаймського університету (Німеччина) за надання зразків ліофілізованої ДНК свиней породи п'єтрен.

1. *Генофонд* свійських тварин України: навч. посібник / Д.І. Барановський [та ін.]; за ред. проф. Д.І. Барановського та В.І. Герасимова. – Харків: Еспада, 2005. – 400 с.
2. *Світовий* генофонд свиней: монографія / В.І. Герасимов [та ін.]; за ред. В.І. Герасимова, М.Д. Березовського та В.М. Нагаєвича. – Харків: Еспада. – 2006. – 520 с.
3. *Войтенко С.Л.* Історія створення та напрям селекції з миргородською породою свиней / Войтенко С.Л. // Ефективне птахівництво та тваринництво. – 2004. – № 10. – С. 69–71.
4. *Соколов Б.П.* Выделение высокомолекулярной эукариотической ДНК с использованием ацетата калия/ Б.П. Соколов, В.В. Джемелинский // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 1989. – № 6. – С. 45–46.
5. *Маниатис Т.* Молекулярное клонирование; пер. с англ.; под ред. А.А. Баева / Т. Маниатис, Э. Фрич, Д. Сэмбрук. – М.: Мир, 1984. – 479 с.
6. *Rogstad S.* GELSTATS: a computer program for population genetics analyses using VNTR multilocus probe data/ S. Rogstad, S. Pelican // Bio. Techniques. – 1996. – V. 21, № 6. – P. 187–196.
7. *Компьютерная* программа для построения эволюционных деревьев на основе электрофореграмм ДНК и белков : материалы конф. «Молекулярно-генетические маркеры и селекция растений» / Р.Н. Календарь // – К., 1994. – С. 25–26.
8. *Vykoukalová Z.* Porcine perilipin (PLIN) gene: Structure, polymorphism and association study in Large White pigs/ Z. Vykoukalová, A. Knoll, S. Šepica // Czech J. Anim. Sci. – 2009. – V. 54, № 8. – P. 359–364.
9. *Peakall R.* GENAIEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / Peakall R. // Molecular Ecology Notes. – 2006. – V. 6. – P. 288–295.
10. *Эрнст Л.К.* Генетические основы селекции сельскохозяйственных животных/ Эрнст Л.К. – М.: РАСХН, ВГНИИ животноводства, 2004. – 736 с.
11. *Генетические* ресурсы сельскохозяйственных животных: редкие и исчезающие породы / И.Г. Моисеева [и др.]. – М.: Наука, 1992. – 136 с.
12. *Тихонов В.Н.* Мониторинг микроэволюции и пороодообразования свиней на основе молекулярно-иммуногенетического анализа / В.Н. Тихонов, В.Е.Бобович // С.-х. биология, 2004. – № 3. – С. 10–28.
13. *Бірта Г.О.* Влияние генотипа на мясные качества свиней/ Г.О. Бірта, Ю.Г. Бургу // Вісник Полтавської держ. аграр. академії. – 2012. – № 1. – С. 212–214.
14. *Additive* effects of 19 porcine SNPs on growth rate, meat content and selection index/ S. Kamicki [et al.] // J. Appl. Genet. – 2009. – V. 50. – № 3. – P. 235–243.
15. *Вавилов Н.И.* Избр. тр. Проблемы происхождения, географии, генетики, селекции растений и агрономии / Вавилов Н.И. – М.: Наука, 1965. – Т. 5. – С. 462–473.
16. *Сравнительный* анализ изменчивости различных генетико-биохимических систем у сельскохозяйственных животных / В. И. Глазко [и др.] // Цитология и генетика. – 1992. – № 3. – С. 40–48.

17. Лебедева Н.В. Измерение и оценка биологического разнообразия / Лебедева Н.В. — Ростов Н/Д:УПЛ РГУ, 1999. — Ч. 2. — 94 с.

18. <http://dad.fao.org>.

19. Ovílo C. Application of molecular markers (RAPD, AFLP and Microsatellites) to Iberian pig genotype characterization / C. Ovílo, M.C. Barragan, C. Castellanos // Tradition and innovation in Mediterranean pig production. — Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, 2000. — P. 79–84.

## **ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КАК ОБОСНОВАНИЕ МЕРОПРИЯТИЙ, НАПРАВЛЕННЫХ НА СОХРАНЕНИЕ ГЕНОФОНДА СВИНЕЙ МИРГОРОДСКОЙ ПОРОДЫ**

**Е.И. Метлицкая, В.Ю. Нор**

*Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)*

*Проведен популяционно-генетический анализ свиней миргородской породы с использованием современных ДНК-технологий. С помощью ISSR-праймеров определены породоспецифические маркеры размером 3500 и 460 п.н. Наличие общего фрагмента размером 370 п.н. у животных пород миргородская и пьетрен может быть свидетельством метизации локальной украинской породы. Влияние генотипа другой породы на структуру популяции миргородских свиней подтверждается отрицательным значением коэффициента фиксации, который для особей исследованной выборки составил  $(-0,692)$  по полиморфному сайту *PLIN2* (g.7966T>C) гена перилипина. Наличие полиморфизма гена *PLIN* в популяции свиней миргородской породы и высокая частота аллелей, ассоциированных со сниженной осаленностью туши, определяют возможность использования этого маркера в селекционных программах. Оценка направления генетических процессов в стадах свиней миргородской породы является основой научного обоснования стратегий устранения негативных последствий метизации и рационального использования генофонда местной украинской породы.*

**Ключевые слова:** миргородская порода свиней, ISSR-ПЦР, полиморфизм гена перилипина, идентификационные маркеры породы

## **POPULATION-AND-GENETIC GROUNDING OF MEASURES AIMED AT MIRGOROD BREED OF PIGS GENE POOL PRESERVING**

**E.I. Metlitskaya, V.Y. Nor**

*Institute of Animal Breeding and Genetics, NAAS (Chubinskoe, Ukraine)*

*The population and genetic analysis of pigs of Mirgorod breed with use of modern DNA technologies is carried out. Use of ISSR primers in PCR defined specific for breed markers of 3500 and 460 p.n. size. Existence of the common fragment of 370 p.n. size at Pietrain and Mirgorod pigs can be the identification of consequences of local Ukrainian breed metization. Influence of the genotype of other breed on structure of Mirgorod pigs' population is confirmed with negative value of fixing coefficient which for animals of the studied selection was  $(-0,692)$  on polymorphic site *PLIN2* (g.7966T>C) of perilipin's gene. Existence of polymorphism of*

*a PLIN gene in pigs of Mirgorod breed population and high frequency of alleles, which are associated with lowered obesity, define the possibility of this marker use in selection programs. Evaluation of the genetic situation in herds of Mirgorod pigs is an important foundation of evidence-based strategies to eliminate the negative effects of cross-breeding and rational management of the gene pool of the local Ukrainian breed.*

**Key words: mirgorod breed of pigs, ISSR-PCR, perilipin's gene polymorphism, identification markers of breed**



УДК 636.2.082:575.113.1

## **АНАЛІЗ ДАНИХ СВІТОВОГО ГЕНЕТИЧНОГО БАНКУ: ОДНОНУКЛЕОТИДНІ ПОЛІМОРФІЗМИ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО ГЕНОМУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ПОРІД ШАРОЛЕ ТА ЛІМУЗИН**

---

**Ю.В. ПОДОБА**

*Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)  
yurpo@ukr.net*

*Проведено порівняльний аналіз послідовностей мітохондріального геному великої рогатої худоби порід шароле та лімузин (*Bos taurus*) із Світового генетичного банку. Аналіз доступних 29 сиквенсів мітохондріальної ДНК (мтДНК) породи шароле та 27 сиквенсів мтДНК породи лімузин дав можливість розподілити їх за приналежністю до європейської та африканської гаплогруп за походженням мітохондріального геному. Серед проаналізованих послідовностей гіперваріабельного району виявлено два ідентичні гаплотипи мтДНК у чотирьох тварин породи шароле та двох тварин породи лімузин, які за схожістю однонуклеотидних замін у гіперваріабельному районі мтДНК, ймовірно, мають родинний зв'язок за материнською лінією.*

**Ключові слова: *Bos taurus*, порода, шароле, лімузин, мтДНК, гаплогрупа, SNP**

© Ю.В. Подоба, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47