

теріалу; підготовки програм селекції порід і окремих масивів худоби на базі вдосконалення методів попереднього добору бугаїв та оцінки їх за якістю нащадків, систем їхнього використання під час накопичення сім'я і після одержання результатів оцінки, а також на базі формування автоматизованої системи управління селекційним процесом.

1. *Генетико-селекційний моніторинг у м'ясному скотарстві* / М.В. Зубець, В.П. Буркат, Ю.Ф. Мельник та ін.; За ред. М.В. Зубця. — К.: Аграрна наука, 2000. — 187 с.

2. *М'ясному скотарству-ефективне відтворення худоби* / Г. Шкурін, Й. Сірацький, С. Демчук та ін. // Тваринництво України. — 2002. — № 8. — С. 19–20.

3. *Порхун Н.Г.* Программа селекции в мясном скотоводстве // Животноводство на пути перестройки: Тез. докл. обл. науч.-произв. конф./ Госагропром УССР. Днепропетр. фил. Укр. НИИ развед. и искус. осем. крупн. рогат. скота. — Д., 1988. — Ч. I. — С. 59.

4. *Програма селекції у м'ясному скотарстві України на період до 2010 року* / М.В. Зубець, В.П. Буркат, Ю.Ф. Мельник та ін. — К., 1998. — 17 с.

5. *Рекомендації щодо формування племінної бази м'ясного скотарства* / М.В. Зубець, В.П. Буркат, І.В. Гузев та ін.; За ред. М.В. Зубця./ Укр. акад. аграр. наук. Ін-т розвед. і генет. тварин. — Чубинське, 2003. — 34 с.

6. *Рекомендації по створенню і організації роботи спеціалізованих господарств по виробництву яловичини* / М-во с.-г. УРСР. Управл. науки, пропаганди і впровадження передового досвіду. — К., 1962. — 17 с.

#### **ОПТИМИЗАЦИЯ СЕЛЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА В МЯСНОМ СКОТОВОДСТВЕ. Н.Г. Порхун**

*Освещены основные организационно-методические мероприятия селекционно-племенной работы в мясном скотоводстве. По материалам зоотехнического учёта в стадах мясного скота проведены оценка селекционных, зоотехнических и экономических показателей и моделирование селекционного процесса с использованием информационных технологий.*

**Селекционный процесс, плодовитость, моделирование**

#### **OPTIMIZATION OF SELECTION PROCESS IN THE MEAT CATTLE BREEDING. M. Porhun**

*The basic organizationally-methodical measures of selection-pedigree work are reflected in the meat cattle breeding. On materials of zootechnics account in the herds of beef cattle estimation of selection, zootechnics and economic indexes and design of selection process is carried out with the use of information technologies.*

**Selection process, fecundity, design**

**УДК 577.21. 636.4.082**

**К.Ф. ПОЧЕРНЯЄВ, А.А. ГЕТЯ**

*Інститут свинарства ім. О.В. Квасницького УААН*

### **УСТАНОВЛЕННЯ ПОРОДНОСТІ СВИНЕЙ З ВИКОРИСТАННЯМ ПОЛІМОРФІЗМУ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО ГЕНОМУ**

*Міжпородний поліморфізм нуклеотидної послідовності контролюючого району мітохондріальної ДНК довжиною 428 пар нуклеотидів було досліджено методом ПЛР-ПДРФ з метою встановлення породності популяції свиней великої білої породи. Модифікація методу дає змогу одночасно визначати однонуклеотидні поліморфізми (SNPs) у позиціях C15580T, T15616C, C15714T та C15758T мітохондріального геному свині. Даний підхід дав можливість ідентифікувати серед популяції шість породоспецифічних мітохондріальних гаплотипи. Було встановлено частку, внесену свиноматками.*

**Свині, породи, генетичні маркери, ПЛР, ПДРФ, мітохондріальна ДНК, однонуклеотидний поліморфізм**

Розробка теоретичних питань породоутворення та використання їх у практиці неможлива без об'єктивних методів встановлення породності. Зазвичай породність визначають, оцінюючи

© К.Ф. Почерняєв, А.А. Гетья, 2007

Розведення і генетика тварин. 2007. Вип. 41.

тварин за спадковими ознаками, характерними для даної породи, та за генеалогією. На жаль, у наш час багато порід свиней не мають притаманного тільки їм комплексу ознак, і специфічність кількісних ознак лежить у межах коливань таких у інших порід [1], а на точність племінного обліку має вплив людський фактор.

З розвитком ДНК-технологій стало можливим використання поліморфізму ДНК, зокрема мітохондріальної, для дослідження породності сільськогосподарських тварин [2]. Початок розв'язання даної проблеми покладено вивченням еволюції виду *Sus scrofa*, шляхом філогенетичного аналізу мітохондріальних нуклеотидних послідовностей підвидів дикої свині. Було доведено, що час дивергенції з предкової форми становив приблизно 500 тис. років [3]. За цей тривалий період у мітохондріальних геномах різних підвидів диких свиней шляхом генотипної мінливості та ізоляції утворились специфічні гаплотипи. Сьогодні різні автори визначають щонайменше 16 різних підвидів дикої свині, які розповсюджені у Євразії та Північно-Західній Африці [4]. У них, окрім морфологічних, було визначено також відмінності мітохондріального геному [5]. Також було встановлено, що доместикація підвидів дикої свині відбулась 9 тис. років тому незалежно в Європі та Азії з різних місцевих популяцій [3]. Накопичені дані про породоспецифічні одонуклеотидні поліморфізми можуть бути використані для встановлення породності свиней методом ПЛР-ПДРФ. Це об'єднання двох методів — полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та поліморфізму довжин рестриктних фрагментів (ПДРФ). ПЛР — циклічний процес, кожний цикл якого складається з трьох етапів: 1) денатурація нуклеїнової кислоти, що досліджується; 2) ренатурація нуклеїнової кислоти з олігонуклеотидними праймерами, які обмежують ампліфіковану ділянку; 3) синтез обмеженої праймерами ділянки нуклеїнової кислоти за допомогою термостабільної ДНК-полімерази до рівня виявлення. Тривалість циклу — 1,5–3 хв., а число циклів залежно від кількості вихідного матеріалу — від 30 до 40. ПДРФ — метод дослідження нуклеїнових кислот, який полягає у специфічному ферментативному розщепленні досліджуваної ДНК ендонуклеазою (рестриктазою) з наступним електрофоретичним розділенням рестриктних фрагментів ДНК. Рестриктази розщеплюють

ДНК у специфічних ділянках. Коли один з нуклеотидів у такій послідовності змінюється внаслідок мутації, ця ділянка перестає розщеплюватися рестриктазами. Водночас мутації можуть приводити до утворення нових ділянок, чутливих до рестриктаз. У результаті відповідні фрагменти ДНК різного генетичного походження часто утворюють рестриктні фрагменти різної довжини. Це явище зветься поліморфізмом довжин рестриктних фрагментів ДНК (ПДРФ, англ. restriction fragment length polymorphism, **RFLP**).

В Інституті свинарства ім. О. В. Квасницького УААН на основі методу ПЦР-ПДРФ був розроблений і запатентований простий спосіб визначення 16 породоспецифічних мітохондріальних гаплотипів, здатних стійко успадковуватися по материнській лінії протягом багатьох поколінь [6].

Цей методичний підхід був використаний для встановлення породності свиней товарного стада агрофірми "Оржицька". Популяція формувалась із тварин багатьох племінних господарств, що призвело до появи фенотипічних ознак, а саме різної постановки вух, не типових для великої білої породи. У зв'язку з цим визначення наявності в даній популяції породоспецифічних мітохондріальних гаплотипів для встановлення породності і стало метою даної роботи.

**Матеріали і методика досліджень.** Зразки крові 20 голів свиней було взято в лютому 2005 р. в господарстві АФ "Оржицька" Оржицького району Полтавської області. Половина відібраних тварин мала стоячі вуха, інша — звислі. Виділення ДНК проводили з використанням іонообмінної смоли Chelex 100 [7]. ПЛР-ПДРФ-аналіз фрагмента контролюючого регіону, що знаходиться між позиціями 15534 та 15962 мітохондріального геному, проводили як описано в роботі [8].

**Результати досліджень.** При аналізі родоводів кнурів виявлено, що завезення тварин відбувалось з різних господарств, проте перевага надавалась тваринам з ПАФ "Україна" (частка нащадків у родоводі 69,0%). Оскільки мітохондріальна ДНК успадковується за материнським типом, головна увага приділялась маточному поголів'ю. Свинки надходили із 17 підприємств. Помітною є частка тварин естонської селекції (30,2%).

На дослідженій нуклеотидній послідовності контролюючого району мітохондріальної ДНК довжиною 428 пар нуклеотидів описано 27 однонуклеотидних поліморфізмів (SNPs) [3, 4]. Спосіб визначення гаплотипів, використаний у даній роботі, дає змогу визначати SNPs у позиціях C15580T, T15616C, C15714T та C15758T мітохондріального геному свині. Серед популяції свиней товарного стада АФ "Оржицька" було визначено породоспецифічні гаплотипи, характерні не тільки великій білій породі (таблиця).

Наявність варіабельних позицій на ділянці контролюючого регіону мітохондріальної ДНК свиней розміром 428 пар нуклеотидів та поліморфізм довжин рестриктних фрагментів *Tas I* дали можливість ідентифікувати породоспецифічні мітохондріальні гаплотипи серед свиней товарного стада АФ "Оржицька".

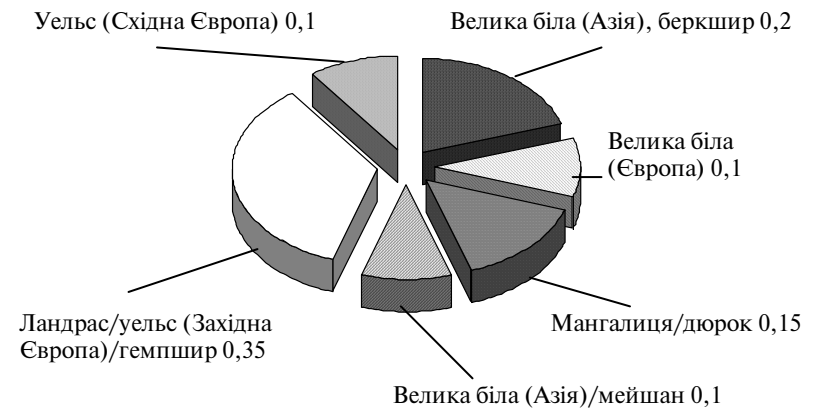
*Породоспецифічні мітохондріальні гаплотипи свиней товарного стада АФ "Оржицька"*

Нуклеотидні позиції				Довжини рестриктних фрагментів ділянки <i>Tas I</i> контролюючого регіону мітохондріальної ДНК свині в парах нуклеотидів	Відповідність мітохондріальних гаплотипів певним породам свиней за [10,11]
15580	15616	15714	15758		
C	C	C	C	406/22	Дюрок, мангалиця
C	T	C	C	346/60/22	Ландрас, уельс, гемпшир
C	C	C	T	203/203/22	Ландрас (Східна Європа)
T	C	C	T	203/180/23/22	Велика біла, мейшан
C	T	C	T	203/143/60/22	Велика біла (Європа)
T	C	T	T	203/136/44/23/22	Велика біла, беркшир, (Азія)

Чотири SNPs, що визначаються даним способом, не дали змоги точно розрізнити такі близькі за походженням групи порід — велика біла×беркшир, ландрас×уельс×гемпшир та інші. Наявність серед тварин даної популяції гаплотипу, характерного по-

родам ландрас×уельс×гемпшир, підтверджується фенотипічним проявом — звислими вухами у деяких тварин.

Співвідношення гаплотипів порід зображено на діаграмі (рисунк). У даній вибірці з найбільшою частотою зустрічались тварини з гаплотипом ландрас×уельс×гемпшир (0,35). З частотою 0,1 зустрічався гаплотип, характерний для породи уельс східноєвропейського типу. Тварини, які за мітохондріальними гаплотипами відносяться до великої білої породи, становили в сумі 0,4 — велика біла (Азія)/беркшир 0,2, велика біла (Європа) 0,1, велика біла (Азія)×мейшан 0,1.



*Частоти гаплотипів у стаді агрофірми "Оржицька", що визначаються однонуклеотидними поліморфізмами C15580T, T15616C, C15714T та C15758T мітохондріального геному свині*

Вирішення питання про походження тварин з гаплотипом мангалиця×дюрок (15%) можливе з використанням гібридологічного аналізу локусу домінантного чорного кольору *E* (*extension*) або молекулярно-генетичного аналізу несинонімічних нуклеотидних замін гена рецептора меланокортину 1 (*MC1R*) для визначення алеля *MC1R\*4*.

**Висновки.** Ситуація, коли стадо укомплектоване тваринами з багатьох господарств, дає можливість відібрати тварин для подальшої селекції, але надскладним є чистопорідне розведення свиней. Певне наближення до вирішення питань установаження породності можливо зробити, додавши до даних з екстер'єру, продуктивності та генеалогії дані про поліморфізм мітохондріальної ДНК.

Іншою перспективою розвитку даного напрямку досліджень може бути закладення і селекція материнських ліній (родин) з урахуванням конкретних гаплотипів. Це дасть змогу ефективно контролювати лінійність тварин і захищати інтелектуальну власність селекціонерів.

1. *Близнюченко А.Г., Гетья А.А.* Структурные единицы породы и их генетические основы // Зоотехнія. — 2003. — № 3. — С. 9–12.

2. *Почерняев К.Ф.* Використання поліморфізму мітохондріальної ДНК у дослідженні сільськогосподарських тварин // Вісн. Полтавської держ. аграр. академії. — 2003. — № 5. С. 122–125.

3. *The Origin of the Domestic Pig: Independent Domestication and Subsequent Introgression / E. Giuffra, J.M.H. Kijas, V. Amarger et al. // Genetics. — 2000. — V. 154. — P. 1785–1791.*

4. *Ruvinsky A., Rothschild M.F.* The Genetics of the Pig, // Oxon, UK: CAB International, 1998. — 640 p.

5. *Phylogenetic relationships of Asian and European pig breeds determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism / K. Kim., J. Lee, K. Li et al. // Anim. Genet. — 2002. — V. 33. — P. 19–25.*

6. *Почерняев К.Ф.* Спосіб визначення мітохондріальних гаплотипів свиней / Деклараційний патент України №А61D7/00 з пріоритетом від 16.05.2005; Бюл. № 5.

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

8. *Kijas J. M. H., Wales R., Tornsten A., Chardon P., Moller M., Andersson L.* Melanocortin Receptor 1 (MC1R) Mutations and Coat Color in Pigs // Genetics. — 1998. — V.150. — P.1177–1185.

#### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОДНОСТИ СВИНЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИМОРФИЗМА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА.**

**К.Ф. Почерняев, А.А. Гетья**

*Межпородный полиморфизм нуклеотидной последовательности контролирующего района митохондриальной ДНК длиной 428 пар нуклеотидов был исследован методом ПЦР-ПДРФ с целью определения породности популяции свиней крупной белой породы. Модификация метода позволяет одновременно определять однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) в позициях C15580T, T15616C, C15714T и C15758T митохондриального генома свиньи. Данный подход позволил идентифицировать среди популяции шесть породоспецифичных митохондриальных гаплотипов. Была определена часть, внесенная свиноматками.*

**Свиньи, породы, генетические маркеры, ПЦР, ПДРФ, митохондриальная ДНК, однонуклеотидный полиморфизм**

#### **BREED BELONGING DETERMINATION IN PIG BREEDING THROUGH THE MITOCHONDRION GENOME POLYMORPHISM ANALYSIS. K.F. Pochernyaev, A.A. Getya**

*Interbreed polymorphism of the nucleotide consistency of the supervisory region of the mitochondrial DNA with the length of 428 pair of the nucleotides was investigated with the PCR-RFLP method. The goal was the belonging of the pigs from known population to the large white breed to define. The modification of the method allows simultaneously define one nucleotide polymorphism (SNPs) in the position C15580T, T15616C, C15714T as well as in C15758T of mitochondrial genome of pig. The approach chosen allowed to identify six breed specific mitochondrial haplotypes among population. The maternal part was define.*

**Pigs, breeds, genetic markers, PCR, RFLP, mitochondrial DNA, one nucleotide polymorphism**