

В. Т. Сметанін, А. І. Кузьменко  
Дніпропетровський державний аграрний університет

## ГЕНОФОНД ІНБРЕДНИХ СВИНЕЙ СЕЛЕКЦІЇ ДСГІ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ ДНК, ВИЯВЛЕНИМИ З ДОПОМОГОЮ ISSR-PCR

Розглянуто результати вивчення генотипу інбредних свиней в порівнянні з генотипом всієї локальної популяції ДСГІ за мікросателітними локусами ДНК, виявленими з допомогою ISSR-PCR. Показана висока господарська цінність даних тварин.

The results are shown in the article concerning studing of genophound of inbreeding pigs in comparison swine local population of Dnepropetrovsk Agrouniversity's selection within microsatellitous locuses of DNA, whick are studed by ISSR-PCR. High agricultural value of these animals is shown here.

### Вступ

Досить широко вивчення ДНК та її структури стало розвиватися після відкриття К. Мюлісом полімеразної ланцюгової реакції – ПЛР (PCR) [1]. Можливості даного методу вже оцінені деякими селекціонерами. За його допомогою з'являється можливість давати більш повний кількісний аналіз генотипу сільськогосподарських тварин. З використанням методу PCR та різноманітних його модифікацій виконано ряд цікавих досліджень [2; 4; 5; 6].

В Дніпропетровській області з 1946 року проводиться робота по розведенню та вдосконаленню локальної популяції свиней Дніпропетровського СГІ, при роботі з якою використовується закрита система розведення, яка передбачає використання інбридингу різного ступеня. Популяція включає три традиційні генеалогічні лінії – Би-строга, Оріха, Борця та п'ять родин – Гордої, Вольниці, Перемоги, Степової та Красуні. Генетична консолідація та певна дивергентність кожної з ліній дозволяють успішно підтримувати високу продуктивність в «закритих» стадах значну кількість поколінь.

Дана локальна популяція представляє науковий інтерес щодо подальшого її вивчення на сучасному рівні розуміння еволюційних процесів і механізмів, які в ній відбуваються [3].

Створена популяція добре пристосована до умов Центрального степу України, має високі відтворні якості і швидкість росту. Багато свиноматок в стаді використовуються 10 і більше опоросів. З метою подальшого вивчення генетичних особливостей свиней селекції ДСГІ було проведено дослідження їх за допомогою PCR.

### Методика досліджень

ДНК-тестування свиней здійснювали в лабораторії генетики Полтавського НДІ свинарства методом ISSR-PCR. Був використаний праймер AGCAGCAGCAGCAGCAGCG, який був обраний на основі досліджень названої лабораторії як найбільш інформативний серед вивчених [6]. PCR проводили на ампліфікаторі за режимом: початкова денатурація – 2 хв при 94°C, 30 циклів віджигу – 30 сек при 94°C, 30 сек при 56°C, 2 хв при 72°C, термічна елонгація – 4 хв при 72°C.

Продукт ампліфікації розподіляли в 2% агарозному гелеві з наступним забарвленням його бромистим етідієм та візуалізацією в УФ променях на транслюмінаторі. Маркером молекулярної маси був 100 bp (Fermentas, Вільнюс).

### Результати досліджень

Було досліджено 28 голів свиней селекції ДСГІ, з яких 23 належать навчально-дослідному господарству «Самарський», і 5 голів – ТОВ «Луговське», які були

отримані з одного гнізда при паруванні брата з сестрою. Коефіцієнт інбридингу яких, за Д. А. Кисловським, становить 25% і тіснота інбридингу, за Шапоружем, II-II за батьком та II-II за матір'ю. В інбредних тварин виявлено значно менше ISSR-PCR-маркерів, ніж в аутбредних, про що свідчать частоти виявлених локусів, наведені в табл. 2.

З табл. видно, що в інбредних тварин амплікони з довжиною 1000 п.н., 370 п.н. та J і E взагалі не зустрічаються, тоді як в інших структурних підрозділах свиней селекції ДСГІ вони досить поширені, і в той же час спостерігається підвищена концентрація локусів довжиною 800 п.н., 570 п.н., 495 п.н., 430 п.н та K і D. Такий розподіл частот може свідчити про перехід деяких генів у гомозиготний стан.

На рис. представлена фореграма ISSR-PCR ДНК-маркерів інбредних свиней, яка наглядно ілюструє виявляемі амплікони, а в табл. 1 приведена матриця зустрічності даних маркерів.

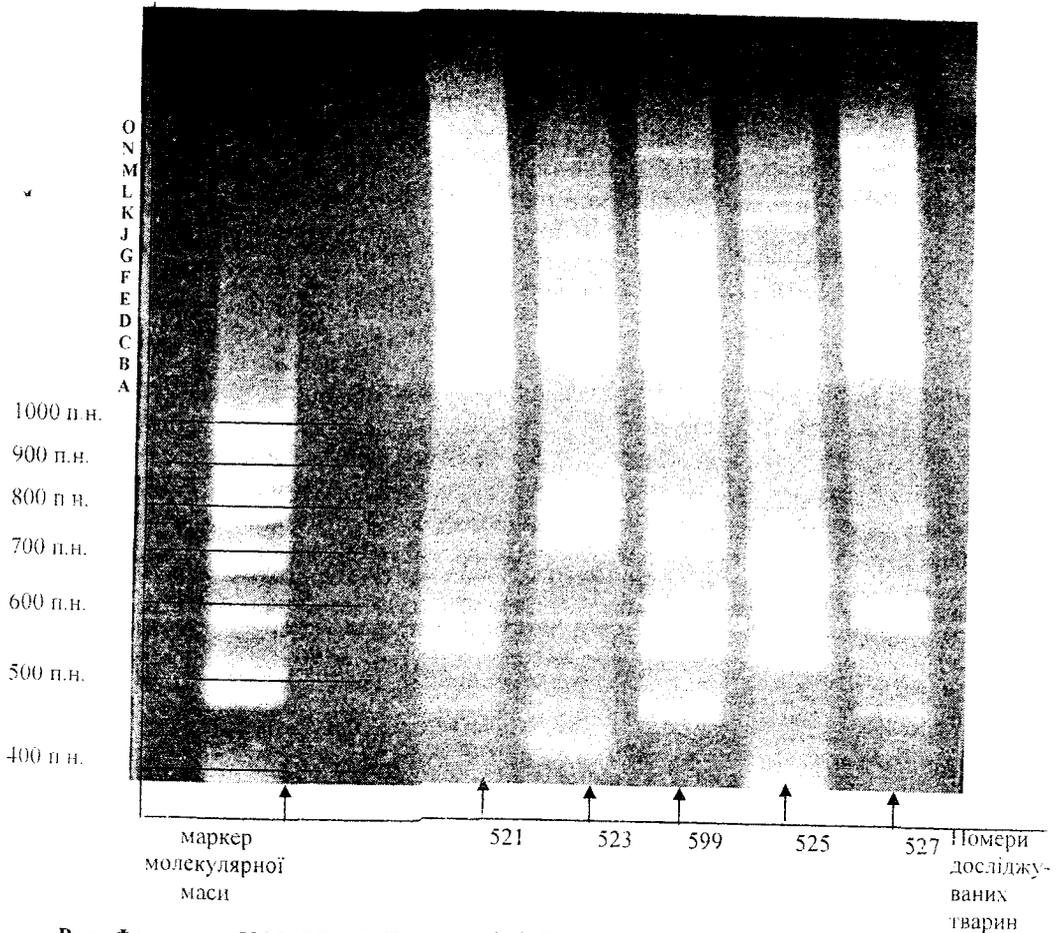


Рис. Фореграма ISSR-PCR ДНК-маркерів інбредних свиней селекції ДСГІ

Даний метод тестування не дозволяє виявити диплоїдності первинної структури ДНК, але можна припустити більш високу гомозиготність інбредних тварин у порівнянні з усією вибіркою та окремими її структурами.

Тут слід підкреслити мікроеволюційний аспект даних явищ, оскільки протестовані 5 інбредних свиней були отримані від свиноматки, що опоросилася дев'ятьма живими поросятами, а до моменту тестування (двох місяців) їх залишилося тільки п'ятеро. Серед народжених масою до 80 кг вижили тільки 2 кнурці

(№№ 523 і 527), із яких на відтворення був відібраний лише № 523. Також, на наш погляд, важливим є різноманітність спектра детектуємих маркерів відносно аутбредних тварин та інбредних, незважаючи на те, що вони отримані з одного гнізда (рис., табл.).

Від кнура № 523 в результаті досить тісного спорідненого парування вже отримані нащадки, коефіцієнт інбридинга яких, за методикою Д. А. Кисловського, становить 37,5%. Даний плідник показує дуже добрі результати при паруванні його і з аутбредними тваринами.

### 1. Матриця зустрічності ISSR-PCR ДНК-маркерів інбредних свиней

Інд. №	521	523	599	525	527
І-локуса, п.н.					
локуси довжиною до 1000 п.н.	280	-	-	-	-
	330	-	-	-	-
	370	-	-	-	-
	430	-	+	-	+
	495	+	-	+	-
	570	+	-	+	+
	590	+	-	-	+
	630	-	-	-	-
	690	-	-	-	-
	710	-	+	+	+
	760	-	-	-	-
	800	-	+	+	-
	890	-	-	-	-
	930	-	-	-	-
1000	-	-	-	-	
локуси, довщі 1000 п.н.	A	-	-	+	-
	B	+	-	-	+
	C	+	+	+	-
	D	-	+	+	+
	E	-	-	-	-
	F	+	-	-	-
	G	+	+	+	-
	J	-	-	-	-
	K	+	-	+	+

### 2. Частоти мікросателітних локусів ДНК свиней

Мікросателітні локуси	Популяція свиней селекції ДСГІ навчально-дослідного господарства «Самарський»					Інбредні свині селекції ДСГІ ТОВ «Лугоське»	
	взя вибірка	багатоплідні і матки	лінія				
			Оріха	Борця	Бистрого		
p	23	9	9	8	6	5	
l	2	3	4	5	6	7	
Довжина більше 1000 пар нуклеотидів	N	0,09	0	0,11	0,13	0	0,4
	M	0,22	0,44	0,22	0,13	0,33	0,2
	L	0,3	0,55	0,44	0,25	0,17	0,2
	K	0,56	0,44	0,44	0,75	0,5	0,8
	J	0,56	0,67	0,67	0,25	0,83	0
	G	0,74	0,89	0,89	0,62	0,67	0,8
	F	0,35	0,33	0,44	0,5	0	0,4
	E	0,65	0,67	0,89	0,5	0,5	0
	D	0,35	0,67	0,22	0,5	0,33	0,6
	C	0,87	0,89	0,78	0,88	1	0,8
	B	0,3	0,33	0,44	0,37	0	0,6
A	0,17	0,11	0,33	0	0,17	0,2	

Закінчення табл.

	1	2	3	4	5	6	7
Довжина локусів, пар нуклеотидів	1000	0,83	0,78	0,78	0,88	0,83	0
	930	0,09	0,11	0,22	0	0	0
	890	0,13	0,22	0,11	0,25	0	0
	800	0,13	0,22	0,11	0,25	0	0,6
	760	0	0	0	0	0	0
	710	0,87	0,89	0,78	0,88	1	0,6
	690	0	0	0	0	0	0
	630	0,96	1	0,89	1	1	0,2
	590	0,91	1	0,89	0,88	1	0,6
	570	0,3	0,44	0,44	0,13	0,33	0,6
	495	0,35	0,56	0,55	0,25	0,17	0,6
	430	0,04	0,11	0,11	0	0	0,4
	370	0,35	0,44	0,44	0,25	0,33	0
	330	0,09	0,11	0	0	0,33	0
	280	0,13	0,11	0,11	0,13	0,17	0

### Висновки

1. Аналіз генофонду свиней селекції ДСПІ за мікросателітними локусами ДНК, проведений з допомогою ISSR-PCR, показав високий поліморфізм генетичних маркерів, виявляємих праймером (AGC)<sub>6</sub>G. За його допомогою в середньому виявлено більше 10 локусів у кожній дослідженій голови, що підтверджує результати отримані Н. Н. Онищенко та В. М. Балацьким [6], про високу інформативність даного праймера.
2. Отримані експериментальні матеріали говорять, з однієї сторони, про збільшення спадкового матеріалу в межах одного інбредного гнізда і в той же час – про звуження спектра спадкових детермінант у кожній конкретній особині і на молекулярному рівні підтверджують теоретичні концепції класиків вітчизняної зоотехнії Д. А. Кисловського та М. Ф. Іванова.
3. Інбридинг ще потребує глибокого вивчення та осмислення, але вже зараз можна сказати, що за умов правильного використання його можна з успішністю застосовувати в різних системах розведення, а особливо для підтримання генетичної мінливості в локальних популяціях.

### Бібліографічні посилання

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение: Пер. с англ. Н. В. Баскаковой, О. А. Колесниковой, Ю. М. Романовой и др. / Под ред. Н. К. Янковского. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
2. Исследование молекулярно-генетического полиморфизма трех пород крупного рогатого скота / М. В. Зубец, В. П. Буркат, Ю. М. Сиволап, В. Е. Кузнецов, И. Н. Ловенчук // Цитология и генетика. – 2001. – Т. 35. – №4. – С. 3–11.
3. Кузьменко А. И. Современные эволюционные представления и механизмы // Генетические аспекты онто- и филогенеза / Мат. Всеукр. теор. конференции. – Днепропетровск, 2004. – С. 62–66.
4. Метлицька О. І. Застосування молекулярно-генетичних маркерів різних класів при визначенні внутрішньо- та міжпородної мінливості свиней: Автореф. дис... канд. с.-г. наук. – с. Чубинське Київської обл., 2001. – 21с.
5. Онищенко М. М., Балацький В. М. Оптимізація техніки ISSR-PCR типування для вивчення генетичного поліморфізму генотипів різних порід свиней // Генетические аспекты онто- и филогенеза. – Днепропетровск, 2004. – С. 101–102.
6. Сметанин В. Т., Кузьменко А. И. Генофонд многоплодных маток свиней селекции ДСХИ по микросателлитным локусам ДНК, выявленным при помощи ISSR-PCR // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – Полтава, 2004. – С. 69–71.

Надійшла до редколегії 04.01.05