

ОЦІНКА МОЖЛИВОСТІ ПРОВЕДЕННЯ МАРКЕРНОЇ СЕЛЕКЦІЇ ЗА ВИКОРИСТАННЯ ПОКАЗНИКІВ ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ

А. М. Саєнко, молодший науковий співробітник*

В. М. Балацький, кандидат біологічних наук

Інститут свинарства і АПВ НААН України, м. Полтава

На основі розрахованих показників популяційно-генетичної мінливості: рівня гетерозиготності та індексу фіксації Райта оцінено можливість проведення селекції за генетичними маркерами локусів GH, PRLR, RYRI, ESR1 і IGF2 в породах і типах свиней різного напрямку продуктивності. Маркерна селекція можлива в популяціях великої білої породи вітчизняної селекції типів УББ-1, УББ-3, також в популяціях ВБА, п'єстрен і мейшан за локусами GH, PRLR, ESR1 і IGF2 та у породі ВЧ за GH, PRLR, ESR1. Маркерна селекція за локусом RYRI не може бути проведена, оскільки в усіх досліджених породах він виявився мономорфним. У ВЧ породі мономорфним був локус IGF2, а у мейшан – GH, що також унеможливорює проведення в них маркерної селекції за зазначеними локусами.

Популяційна генетична мінливість, породи свиней, гетерозиготність, локуси генів, поліморфізм.

Селекційний процес у свинарстві може бути значно ефективнішим, якщо для оцінки генотипів тварин та їх подальшого відбору і підбору крім традиційних підходів використовувати молекулярно-генетичне маркування особин за локусами кількісних ознак (QTL – quantitative trait loci). До останніх належить цілий ряд генів, для яких вже доведені суттєві асоціації з конкретними репродуктивними, відгодівельними і м'ясними якостями свиней. З урахуванням результатів типування за такими генами створюються заводські лінії, наприклад, з підвищеним багатопліддям свиноматок [6], або покращуються м'ясні кондиції вже існуючих порід свиней [3].

Популяційні дослідження обов'язково передують впровадженню маркерної селекції за QTL генами, а складовою частиною таких досліджень є аналіз отриманих первинних даних за допомогою програм зі статистики: GenAlEx 6, STATISTICA, Mega 4 та ін., [9–11]. Розрахунок цілого ряду популяційних параметрів, особливо показників популяційної генетичної мінливості, в основі якої різне сполучення алелів [12], дають змогу проводити генетичний аналіз і моніторинг популяцій, а також визначити можливість проведення в них маркерної селекції за обраними QTL. Мірою популяційної генетичної мінливості, перш за все, є рівень гетерозиготності. Однак, слід зазначити, що фактична гетерозиготність популяції коливається залежно від багатьох причин і, в першу чергу, від ступеня панміксії. Якщо популяція складається переважно з гомозигот, то фактична гетерозиготність взагалі не може бути показником популяційної генетичної мінливості. З урахуванням цих обставин можна визначати очікувану гетерозиготність для окремого локусу, яка б могла бути у популяціях за умови повної панміксії [5]. Отже, визначення саме очікуваної гетерозиготності надалі може бути підставою для планування як традиційної, так і маркерної селекції за QTL-генами у досліджених популяціях.

Спеціалізовані породи або внутрішньопородні типи характеризуються переважанням проявом певних продуктивних ознак. Так, велика біла (ВБ) порода, яка належить до порід універсального типу продуктивності, в Україні представлена кількома типами, серед яких УВБ-1 є материнським типом з покращеними репродуктивними якостями, а УВБ-3 – з покращеними м'ясними якостями, так званий батьківський тип. Крім того, є популяції свиней великої білої англійської селекції (ВБА) м'ясного напрямку продуктивності. Велика чорна порода (ВЧ) в Україні належить до генотипів з м'ясосальним типом продуктивності. Породи п'єтрен – ультрам'ясна порода, а мейшан – сальна. Аналіз у зазначених вище породах і типах популяційної генетичної мінливості у відношенні локусів *GH*, *IGF2*, *RYRI*, *PRLR*, і *ESR1*, серед яких перші три асоційовані, в основному, з м'ясними і відгодівельними якостями, а решта – з репродуктивними ознаками, може бути цікавим з точки зору оцінки можливості проведення в них маркерної селекції, як у напрямі «спеціалізації» породи, так і для покращення інших ознак продуктивності.

Мета дослідження – оцінити можливість проведення маркерної селекції за окремими QTL-генами в популяціях свиней різного напрямку продуктивності на підставі показників популяційної генетичної мінливості.

Матеріали та методи досліджень. Біоматеріал (кров) відбирали з вушної вени від тварин УВБ-1 та УВБ-3, ВБА, ВЧ з провідних із розведення порід племінних господарств України. Зразки ДНК порід мейшан та п'єтрен використовували із банку ДНК лабораторії генетики Інституту свинарства і АПВ НААН України.

ДНК виділяли сольовим методом [4] із венозної крові тварин. Отримані зразки ДНК зберігали за температури -20 °С.

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили на термоциклері "Терцик -2" (ДНК-технологія, Росія). ПЛР та рестриктний аналіз за локусами: інсуліноподібного фактора росту 2 (*IGF2*, insulin-like growth factor 2), рецептора ріанодину (*RYR1* – ryanodine receptor gene), гена рецептора пролактину (*PRLR* – prolactin receptor gene), гормону росту (*GH* – growth hormone gene) та рецептора естрогену 1 (*ESR1* – oestrogen receptor gene 1) здійснювали згідно з рекомендаціями [1, 7, 14, 16, 17]. Суміш рестрикційних фрагментів аналізували за допомогою електрофорезу у 8% поліакріламідному гелі. Розміри отриманих рестриктів визначали за допомогою маркера молекулярної маси *pBR322/BsuRI*. Статистичне опрацювання даних виконували з використанням стандартної програми для популяційних досліджень GenAlEx6.

Результати досліджень. Проведено ДНК-типування досліджуваних свиней за локусами генів *GH*, *PRLR*, *RYR1*, *ESR1* і *IGF2*, результати якого було використано для визначення гетерозиготності фактичної та очікуваної, а також індексу фіксації Райта (див. таблицю) як показників популяційно-генетичної мінливості.

Для ряду локусів і популяцій виявлено суттєві відмінності рівнів фактичної і очікуваної гетерозиготності. Так, наприклад, для локусів *PRLR* та *GH* майже в усіх досліджених породах спостерігалися вищі значення показників H_e над H_o , гетерозиготних генотипів виявлялося значно менше, ніж очікувалося з їх нормального розподілу, врахованого за допомогою програми GenAlEx 6. Дефіцит гетерозигот за цими локусами може бути пов'язаний з переважаючим несвідомим штучним або природним відбором гомозиготних генотипів. Подібне зрушення в розподілі генотипів за локусом *PRLR*, наприклад, також спостерігалось в популяції для польського ландраса і великої білої породи [13], у в'єтнамських свиней [15], української м'ясної та уельської породах [2], однак не виявлено у ряді інших [8]. Статистично підтверджений дефіцит гетерозигот зафіксовано також і за локусом *ESR1* в популяції УВБ-3.

У наведених вище випадках фактична гетерозиготність H_o коректно не відображує алельний поліморфізм локусу в популяції, де присутні обидва алелі, але, в основному, в гомозиготному стані і, відповідно, показник фактичної гетерозиготності дуже низький, або навіть дорівнює 0 (наприклад, для локусу *PRLR* у мікропопуляції свиней породи мейшан та *GH* у породі п'єтрен). Тому для оцінки можливості проведення маркерної селекції доцільно використати показник H_e , який відображує потенціал популяції щодо можливого поєднання алелів у наступних генераціях і проведення маркерної селекції. При цьому коефіцієнт Райта має позитивне

значення і свідчить про певний ступінь інбридингу в даній популяції залежно від величини коефіцієнта. З іншого боку, у випадку, коли фактична гетерозиготність вища за очікувану, в популяції спостерігається надлишок гетерозигот, який може бути результатом селекційного тиску, або природного відбору. На наш погляд, і в цій ситуації показник H_e більш коректно відображує рівень генетичної мінливості, яка потенційно може мати місце при поєднанні алелів залежно від їх частоти в наступній, генерації, якщо не будуть впливати фактори відбору. Відповідно, коефіцієнт Райта має від'ємне значення.

Фактична й теоретично очікувана гетерозиготність у різних популяціях і значення фіксаційного індексу С. Райта

Порода	Локус	H_o	H_e	F
Українська велика біла УВБ-1 (104 гол.)	RYRI	0,000	0,000	-
	ESR1	0,510	0,498	-0,024
	PRLR	0,125***	0,466	0,732
	GH	0,029***	0,305	0,905
	IGF2	0,067	0,065	-0,035
Велика чорна (100 гол.)	RYRI	0,000	0,000	-
	ESR1	0,230	0,276	0,165
	PRLR	0,180***	0,449	0,599
	GH	0,030***	0,302	0,901
	IGF2	0,000	0,000	-
Велика біла англійської селекції (100 гол.)	RYRI	0,000	0,000	-
	ESR1	0,620	0,493	-0,258
	PRLR	0,020***	0,241	0,917
	GH	0,060***	0,241	0,751
	IGF2	0,560	0,461	-0,215
Українська велика біла УВБ-3 (100 гол.)	RYRI	0,000	0,000	-
	ESR1	0,230**	0,424	0,457
	PRLR	0,190***	0,474	0,599
	GH	0,180***	0,403	0,554
	IGF2	0,340	0,332	-0,025
П'єтрєн (9 гол.)	RYRI	0,000	0,000	-
	ESR1	0,111	0,278	0,600
	PRLR	0,000	0,198	1,000
	GH	0,000*	0,346	1,000
	IGF2	0,000	0,198	1,000
Мейшан (5 гол.)	RYRI	0,000	0,000	-
	ESR1	0,800	0,480	-0,667
	PRLR	0,000*	0,480	1,000
	GH	0,000	0,000	-
	IGF2	1,000*	0,500	-1,000

H_o – фактична гетерозиготність;

H_e – теоретично очікувана гетерозиготність;

F – індекс фіксації С. Райта;

* $p \geq 0,05$, ** $p \geq 0,01$, *** $p \geq 0,001$ – пороги достовірності за критерієм Фішера.

У досліджених нами популяціях генетична мінливість щодо локусу *RYR1* відсутня, маркерна селекція на внутрішньопородній основі неможлива. Локус *ESR1* відрізняється достатньо високою як фактичною, так і очікуваною гетерозиготністю майже в усіх породах і типах, і маркерна селекція має перспективи з точки зору достатнього рівня генетичної мінливості. Генетична мінливість за *PRLR* локусом, якщо її оцінювати за рівнем очікуваної гетерозиготності, достатньо висока в усіх популяціях, але в цих генераціях, в основному, не проявляється достатньо для ефективного відбору тварин усіх можливих генотипів. Подібна ситуація характерна і для локусу *GH*. Щодо локусу *IGF2*, генетична мінливість порід різна і, в основному, не спостерігається значних розбіжностей показників Но і Не.

Таким чином, перспективними породами і типами щодо проведення маркерної селекції за локусом *ESR1* є УВБ-1, УВБ-3, ВБА, ВЧ, п'єстрен і мейшан, за локусами *PRLR* та *GH* – УВБ-1, УВБ-3, ВБА і ВЧ, за локусом *IGF2* – УВБ-1, УВБ-3, ВБА і мейшан.

Висновки

Для оцінки можливості проведення маркерної селекції доцільно використовувати показник Не, який відображує потенціал популяції щодо можливого поєднання алелів у наступних генераціях і проведення маркерної селекції.

Перспективними породами і типами щодо проведення маркерної селекції за локусом *ESR1* є УВБ-1, УВБ-3, ВБА, ВЧ, п'єстрен і мейшан, за локусами *PRLR* та *GH* – УВБ-1, УВБ-3, ВБА і ВЧ, за локусом *IGF2* – УВБ-1, УВБ-3, ВБА і мейшан.

Маркерна селекція за локусом *RYR1* неможлива, тому що в усіх досліджених породах він виявився мономорфним, у УВБ-1, ВЧ, ВБА, УВБ-3, і мейшан зустрічалися лише генотипи NN у п'єстрен – nn). У ВЧ породі мономорфним був локус *IGF2*, а у мейшан – *GH*, що також унеможливило проведення в них маркерної селекції за зазначеними локусами.

Список літератури

1. Брэм Г. Использование в селекции свиней молекулярной генной диагностики злокачественного гипертемического синдрома (MHS) / Г. Брэм, Б. Бренинг // Генетика. – 1993. – Т. 29, № 6. – С. 1009–1013.
2. Драгулян М. В. Генетичний поліморфізм свиней (SUS SCROFA DOMESTICA) української м'ясної та уельської порід за цито- та молекулярно-генетичними маркерами : дис. ... канд. біол. наук / Драгулян М. В. – К., 2014. – 163 с.
3. Епишко О. А. Гены, детерминирующие воспроизводительную функцию свиноматок / О. А. Епишко // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. – 2008. – № 2.
4. Соколов Б. П. Выделение высокомолекулярной еукариотической ДНК с использованием ацетата калия / Б. П. Соколов, В. В. Джемелинский // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 1989. – № 6. – С. 45–46.

5. Тоцький В. М. Генетика : підруч. / В. М. Тоцький. – 3-тє вид., випр. та доп. // “Астропринт”. – 2008. – 712 с.
6. Селекция на повышение многоплодия свиноматок / И. П. Шейко, Н. А. Лобан., О. Я. Василюк, Д. С. Драбинович // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. – 2006. – № 3.
7. Arkadiusz Terman, Marek Kmiec Associations between the prolactin receptor gene polymorphism and reproductive traits of boars // J Appl Genet 47(2), 2006. – P. 139–141.
8. Barreras Serrano A., Herrera Haro J.G., Hori-Oshima S., Gutierrez Espinosa A., Ortega Cerrilla M.E., Perez Perez J., Lemus Flores C., Kinejara Espinosa A.L., Gonzalez Arangure A., Soto Avila J.G. Prolactin Receptor (PRLR) Gen Polymorphism and Associations with Reproductive Traits in Pigs // Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2009. – № 8 (3). – P. 469–475.
9. <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>
10. <http://www.statsoft.ru>
11. <http://www.megasoftware.net>
12. <http://vocabulary.ru/dictionary/873/word/geneticheskaja-izmenchivost>
13. Kmiec M., Terman A. Associations between the prolactin receptor gene polymorphism and reproductive traits of boars // J. Appl. Genet. – 2006. – Vol. 47. – № 2. – P. 139–141.
14. Knoll A, Putnoval L, Dvorak J, Cepia S. A *Nci* I *PCR-RFLP* within intron 2 of the porcine insulin-like growth factor-2 (IGF2) gene J. Anim. Genet. 31 (2000). – P. 150–151.
15. Nguyen Thi Dieu Thuy Nguyen Thu Thuy and Nguyen Van Cuong. Genetic polymorphism of prolactin receptor gene in Mong Cai pig // Proceedings of International Workshop on Biotechnology in Agriculture. ABSTRACT MATERIALS AND METHODS. 2011-12-01. Source: asag-biotech.net <http://www.findthatpdf.com/search-28520246-hPDF/download-documents-ntdthuy-pdf.htm>.
16. Short H.T., Rothschild F. M. Effect of the Estrogen Receptor Locus on Reproduction and Production Traits in Four Commercial Pig Lines // J. Anim. Sci. 1997. 75:3138–3142.
17. Z. Vykoukalová, A. Knoll, J. Dvořák & Čepica New SNPs in the IGF2 gene and backfat thickness and lean meat content in Large White pigs. J. Anim. Breed. Genet. 123 (2006) 204-207

На основе рассчитанных показателей популяционно-генетической изменчивости: уровня гетерозиготности и индекса фиксации Райта оценена возможность проведения селекции по генетическим маркерам локусов GH, PRLR, RYRI, ESR1 и IGF2 в породах и типах свиней разного направления продуктивности. Маркерная селекция возможна в популяциях крупной белой породы отечественной селекции типов УКБ-1, УКБ-3, также в популяциях КБА, пьетрен и мейшан по локусам GH, PRLR, ESR1, IGF2 и в породе КЧ по GH, PRLR, ESR1. Маркерная селекция по локусу RYRI не может быть проведена, так как во всех исследованных породах он оказался мономорфным. В КЧ породе мономорфным был локус IGF2, а в мейшан – GH, что также делает невозможным проведение в них маркерной селекции по указанным локусам.

Популяционная генетическая изменчивость, породы свиней, гетерозиготность, локусы генов, полиморфизм.

On the base of the calculated indexes of population-genetic variability: level of heterozygosity and fixation index of S. Wright it was evaluated the possibility of selection on genetic markers of loci GH, PRLR, RYRI, ESR1 and IGF2 in breeds and types of pigs of the different productive direction. Marker selection is possible in populations of the Large White breed of domestic selection of types of ULW-1, ULW -3, also in populations of LW, Pietrain and Meishan for loci GH, PRLR, ESR1, IGF2 and in breed LB on GH, PRLR, ESR1. Marker selection on locus RYRI cannot be performed because in all tested breeds it was monomorphic. In the LB breed locus IGF2 was monomorphic, and Meishan - GH, which also makes it impossible to carry out the marker selection in them on these loci.

Population-genetic variability, breed of pigs, heterozygosity, gene loci, polymorphism.