

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ СВИНЕЙ МАТЕРИНСКИХ ПОРОД ОТЕЧЕСТВЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-МАРКЕРОВ

Н. А. ЛОБАН, Е. В. ПИЩЕЛКА, Ю. С. КАЗУТОВА

*РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству»,
г. Жодино, Республика Беларусь*

О. В. КОСТИУНИНА, Н. А. ЗИНОВЬЕВА, В. Р. ХАРЗИНОВА

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный на-
учный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»,
пос. Дубровицы, Россия, 142132*

Е. Н. ЛОБАН

*Институт подготовки научных кадров НАН Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь*

(Поступила в редакцию 31.01.2019)

На основе анализа полиморфизма 10 микросателлитов, а также гена инсулиноподобного фактора роста (IGF-2) дана характеристика аллелофонда и генетического разнообразия свиней крупной белой и черно-пестрой пород белорусской селекции. Анализ популяционно-генетических параметров выявил тенденцию более высокого генетического разнообразия в крупной белой породе свиней по сравнению с черно-пестрой. Частота встречаемости аллеля Q и генотипа QQ гена IGF-2 в породах белорусской селекции относительно была не высока, по всей видимости это связано с преимущественной селекцией данных пород по воспроизводительным качествам.

Ключевые слова: свиньи, белорусская крупная белая порода, белорусская черно-пестрая порода, микросателлиты, IGF-2.

Based on the analysis of polymorphism of 10 microsatellites, as well as insulin-like growth factor gene (IGF-2), characteristic of allele fund and genetic diversity of pigs of large white and black-and-white breeds of Belarusian breeding is given. Analysis of population genetic parameters revealed tendency of higher genetic diversity in the large white breed of pigs as compared with the black-and-white breed. The frequency of occurrence of the Q allele and the QQ genotype of IGF-2 gene in Belarusian breeds was relatively not high, apparently due to preferential selection of these breeds according to reproductive traits.

Keywords: pigs, Belarusian large white breed, Belarusian black-and-white breed, microsatellites, IGF-2.

Введение. В Республике Беларусь актуальной и стратегической задачей, связанной с обеспечением продовольственной безопасности страны, является повышение продуктивных качеств пород сельскохозяйственных животных, в том числе свиней, и рациональное использование их генетического потенциала [1]. Для Республики свиноводство является традиционной отраслью сельского хозяйства с достаточно высоким уровнем развития и занимает второе место в мясном балансе

страны [2]. Генофонд свиней представлен животными белорусской крупной белой, белорусскими черно-пестрой и мясной породами, эстонской беконной, гемпширом, а также ландрас и дюрок [3]. В настоящее время основой материнской породы и доминирующей по численности (60 % хряков и 90 % маток) среди разводимых плановых пород свиней является белорусская крупная белая (БКБ), от селекционно-генетического потенциала, развития и продуктивности которой, зависит экономическая эффективность откорма товарного молодняка и производства свинины [4]. Животные этой породы характеризуются крепкой конституцией, высокой резистентностью организма, стрессоустойчивостью, а также приспособленностью к региональным условиям разведения и высокими адаптационными качествами при промышленном производстве свинины [5]. В качестве материнской и отцовской форм в системе гибридизации, широко используют белорусскую черно-пеструю породу [3]. Она характеризуется достаточно высоким многоплодием, хорошими адаптационными способностями, стрессоустойчивостью и является наиболее приспособленной к технологиям, применяемым в свиноводстве [6].

Вместе с тем важной предпосылкой для дальнейшего повышения жизнеспособности, роста и репродуктивности животных с учётом особенностей генофонда пород и популяций свиней является обстоятельное описание их генетического разнообразия. Основным инструментом для этих целей являются молекулярно-генетические маркеры, в частности микросателлиты (STR-short tandem repeats), революционизировавшие способность характеризовать генетические вариации и оценивать генетическую структуру популяций млекопитающих [7]. Кроме этого, STR анализ остается бесценным генетическим инструментом для установления родства, идентификации и чистопородности животных, а также для картирования и оценки потоков генов между популяциями [8]. Также для оценки генетического потенциала свиней непосредственно на уровне генотипа и для характеристики различных пород вида *Sus scrofa* проводятся эксперименты по выявлению информативных SNPs и разработке систем анализа ДНК-маркеров, влияющих на проявление селекционно и экономически значимых признаков [9]. В качестве маркеров продуктивных качеств рассматриваются несколько генов, однако на откормочные и мясные качества свиней в большей степени влияет наличие в геноме животных гена инсулиноподобного фактора роста (IGF-2). Ранее установлено, что мутация в гене IGF-2 (q→Q) существенно влияет на скорость роста и отложение жира у свиней. Следует учитывать, что данный ген характеризуется патернальным действием на продуктивность. Это означает, что у потомства проявляется действие только того аллеля, который был получен от отца. Патернальное действие гена существенно облегчает разработку селекционной стратегии, так как для достижения положитель-

ного эффекта у потомства достаточно проведения тестирования и отбора только хряков [4].

Цель работы. Изучение генетического разнообразия, а также характеристики генетической структуры белорусской крупной белой и черно-пестрой пород свиней с использованием генетических маркеров, в частности микросателлитов и ДНК-маркера инсулиноподобного фактора роста IGF-2.

Материалы и методика исследований. Исследования были проведены на свиньях двух пород: белорусская крупная белая (БКБ, $n=82$) разводимых в СГЦ «Заднепровский» (БКБ¹, $n=47$), ОАО п/з «Тимоново» (БКБ², $n=15$), СГЦ «Вихра» (БКБ³, $n=15$) и ОАО «СГЦ Заречье» (БКБ⁴, $n=5$), а также белорусская черно-пестрая (БЧП, $n=48$), содержащаяся КСУП «Племзавод Ленино» (БЧП¹, $n=100$), СГЦ «Вихра» (БЧП², $n=9$), ОАО «СГЦ Заречье» (БЧП³, $n=5$). В качестве биологического материала использовали пробы ткани. Выделение ДНК осуществляли с помощью колонок Nexttec («Nexttec™ Biotechnologie GmbH», Германия), согласно протоколу фирмы-изготовителя. Мультиплексный анализ, включающий 10 STR-локусов (S0155, S0355, S0386, SW24, SO005, SW72, SW951, S0101, SW240, SW857), выполняли с использованием ранее описанной методики (Харзинова В.Р. и др., 2018). Капиллярный электрофорез проводили на генетическом анализаторе ABI3130xl («Applied Biosystems», США) с последующим определением длин аллелей микросателлитов в программном обеспечении Gene Mapper v. 4.0. («Applied Biosystems», США). Для характеристики аллелофонда определяли среднее число аллелей (N_a), число эффективных (N_e) и «приватный» (Pr) аллелей в расчете на локус, число информативных аллелей или аллелей с частотой встречаемости более 5 % ($N_{a \geq 5\%}$), степень наблюдаемой (H_o) и ожидаемой гетерозиготности (H_e) и коэффициент инбридинга (Fis). Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета MS Excel 2007 с плагином GenAlEx v. 6.5.1 (Peakall R., Smouse P.E., 2012).

Определение полиморфизма гена IGF-2 осуществляли с использованием разработанной методики [11] посредством ПЦР-ПДРФ анализа. Реакции проводили в конечном объеме 20 мкл, используя стандартный состав реакционной смеси и 5 пмол каждого из праймеров [14]. Проводили 40 циклов ПЦР в стандартном температурно-временном режиме (температура отжига – 60 градусов). Амплифицированный фрагмент длиной 198 п.о. подвергали гидролизу эндонуклеазой рестрикции *Taq I* и проводили разделение фрагментов в агарозном геле.

Результаты исследований и их обсуждение. В исследованной группе генотипов по 10 использованным микросателлитам было отмечено 74 аллеля. Наибольшей вариабельностью характеризовались локусы SO005 (16 аллелей), SW857 и SW24 (по 9 аллелей), а наименьшей (по 4 аллеля) локусы S0155 и SW72. При проверке соотношения частот

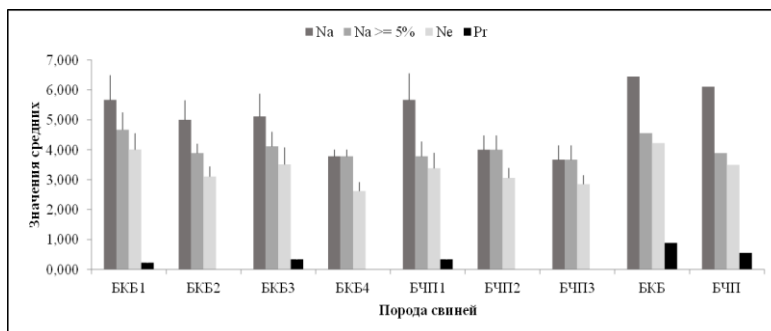
генотипов по генетическому равновесию Харди-Вайнберга (табл.1.), по всей выборке в целом, два локуса имели высоко-достоверные отклонения ($P<0.001$) от состояния генетического равновесия: SO005 и SO386.

Таблица 1. Результаты теста на соответствие генетическому равновесию Харди-Вайнберга

Порода свиней	Локус MC									
	SW 24	SO 155	SO 005	SW 72	SW 951	SO 386	SO 355	SW 240	SW 857	SO 101
БКБ	**	ns	***	ns	ns	***	**	*	**	ns
БЧП	*	*	***	ns	ns	***	**	ns	*	ns

Примечание: ns – не достоверно; * – $P<0,05$; ** – $P<0,01$; *** – $P<0,001$; Расшифровку аббревиатур для пород свиней см. в методике исследований.

Статистически значимое отклонение ($P<0.01$) у свиней БКБ было отмечено в локусах SW24, SW857 и SO355, в то время как у БЧП только в локусе SO355. Однако, у свиней БЧП было детектировано наибольшее количество локусов с достоверным отклонением от равновесного состояния ($P<0.05$), в сравнении со свиньями БКБ породы: три (SW24, SO155 и SW857) против одного (SW240). Вместе с тем свиньи как крупной белой, так и черно-пестрой пород имели равное количество локусов (шесть) имеющих достоверные отклонения от состояния генетического равновесия. Анализ аллельного разнообразия в отношении среднего числа аллелей (N_a), числа эффективных (N_e), информативных ($N_{a\geq 5\%}$) и приватный (Pr) аллелей по всем исследованным маркерам представлен на рис. 1.



Примечание: N_a – среднее число аллелей на локус; N_e – среднее эффективное число аллелей на локус; $N_{a\geq 5\%}$ – число информативных и Pr – приватный аллелей. Расшифровку аббревиатур для групп свиней см. в методике исследований.

Рис. 1. Показатели аллельного разнообразия исследуемых пород свиней на основе 10 STR.

Среди групп свиней БКБ породы среднее число аллелей (N_a) варьировало от $3,778\pm 0,222$ у БКБ⁴ до $5,667\pm 0,816$ у БКБ¹. Такая же зако-

номерность наблюдалась в отношении эффективного числа аллелей (N_e) и информативных аллелей ($N_{a \geq 5\%}$) на локус: свиньи БКБ¹ имели максимальные значения показателей ($N_e = 4,002 \pm 0,545$, $N_{a \geq 5\%} = 4,667 \pm 0,577$). Группа БЧП¹ – характеризовалась максимальными значениями среднего (N_a) и эффективного (N_e) числа аллелей, что составило $5,667 \pm 0,882$ и $3,381 \pm 0,513$ соответственно. В свою очередь БЧП² превосходила остальных относительно числа информативных аллелей с частотой встречаемости более 5 %: $N_{a \geq 5\%} = 4,000 \pm 0,471$ против $N_{a \geq 5\%} = 3,778 \pm 0,494$ у БЧП¹ и $N_{a \geq 5\%} = 3,667 \pm 0,471$ у БЧП³.

Только две группы свиней крупной белой (БКБ¹ и БКБ³) и одна группа черно-пестрой (БЧП¹) пород характеризовались наличием уникальных (приватных) аллелей, с равными максимальными значениями показателя у БКБ³ и БЧП¹ ($Pr_{БКБ^3} = 0,333 \pm 0,236$ и $Pr_{БЧП^1} = 0,333 \pm 0,167$). В целом максимальный уровень аллельного разнообразия был выявлен у свиней крупной белой породы, о чем свидетельствуют наибольшие значения всех показателей ($N_a = 6,444 \pm 1,168$, $N_e = 4,226 \pm 0,763$, $N_{a \geq 5\%} = 4,556 \pm 0,603$ и $Pr = 0,889 \pm 0,512$) в сравнении с черно-пестрой породой ($N_a = 6,111 \pm 0,904$, $N_e = 3,490 \pm 0,521$, $N_{a \geq 5\%} = 3,889 \pm 0,484$ и $Pr = 0,556 \pm 0,176$). В табл. 2 приведены результаты анализа генетического разнообразия исследуемых пород свиней. Наблюдаемая степень гетерозиготности в исследованных группах свиней крупной белой породы находилась в пределах от $0,607 \pm 0,050$ у БКБ² до $0,707 \pm 0,046$ у БКБ¹.

Таблица 2. Показатели генетического разнообразия исследуемых пород свиней на основе 10 STR

Порода	Наблюдаемая гетерозиготность (H_o) ($M \pm m$)	Ожидаемая гетерозиготность (H_e) ($M \pm m$)	Коэффициент инбридинга (F_{is}) ($M \pm m$)
БКБ ¹	$0,707 \pm 0,046$	$0,718 \pm 0,031$	$0,017 \pm 0,043$
БКБ ²	$0,607 \pm 0,050$	$0,654 \pm 0,028$	$0,075 \pm 0,059$
БКБ ³	$0,622 \pm 0,037$	$0,657 \pm 0,050$	$0,028 \pm 0,054$
БКБ ⁴	$0,689 \pm 0,068$	$0,580 \pm 0,046$	$-0,189 \pm 0,063$
БКБ	$0,672 \pm 0,041$	$0,717 \pm 0,034$	$0,061 \pm 0,039$
БЧП ¹	$0,671 \pm 0,059$	$0,653 \pm 0,049$	$-0,024 \pm 0,034$
БЧП ²	$0,617 \pm 0,102$	$0,630 \pm 0,057$	$0,008 \pm 0,132$
БЧП ³	$0,667 \pm 0,058$	$0,618 \pm 0,040$	$-0,101 \pm 0,097$
БЧП	$0,666 \pm 0,058$	$0,663 \pm 0,049$	$-0,003 \pm 0,040$

Примечание: Расшифровку аббревиатур для групп свиней см. в методике исследований.

Также данная группа свиней характеризовалась максимальными значениями ожидаемой гетерозиготности ($H_e = 0,718 \pm 0,031$), в то время как группа БКБ⁴ имела минимальные значения показателя ($H_e = 0,580 \pm 0,046$). Несмотря на достаточно высокий уровень наблюдаемой гетерозиготности, в группах БКБ¹, БКБ² и БКБ³ выявлен небольшой дефицит гетерозигот, что проявляется в положительных значениях коэффициента инбридинга (F_{is}). Исключение составила группа животных БКБ⁴, у которой данный показатель имел отрицательное значение ($-0,189 \pm 0,063$).

Среди свиней черно-пестрой породы, относительно значений ожидаемой и наблюдаемой степени гетерозиготности, существенных отличий выявлено не было. Смещение генетического разнообразия в сторону небольшого избытка гетерозигот было выявлено у БЧП¹ и БЧП³, на что указывают отрицательные значения коэффициента инбридинга ($Fis_{БЧП^1} = -0,024 \pm 0,034$ и $Fis_{БЧП^3} = -0,101 \pm 0,097$). Анализ популяционно-генетических параметров выявил тенденцию более высокого генетического разнообразия в крупной белой породе свиней по сравнению с черно-пестрой. При этом БЧП характеризуется незначительным (0,3 %) избытком гетерозигот.

При анализе распределения частот встречаемости генотипов гена IGF-2 (табл. 3) было выявлено, что частота аллеля Q, ассоциированного с мясными качествами, у свиней белорусской крупной белой породы варьировала в диапазоне 0,200–0,266, в среднем составила 0,268 у свиней белорусской черно-пестрой породы фиксировалась на уровне 0,389–0,060, в среднем составила 0,136.

Таблица 3. Распределение частот встречаемости генотипов гена IGF-2 у хряков белорусской крупной белой и белорусской черно-пестрой пород

Порода	Кол-во голов	Частота встречаемости генотипа			Частота встречаемости аллеля	
		QQ	Qq	qq	Q	q
КББ ¹	47	8,51	36,17	55,32	0,266	0,734
КББ ²	15	6,67	53,33	40,00	0,333	0,667
КББ ³	15	0,00	46,67	53,33	0,233	0,767
КББ ⁴	5	0,00	40,00	60,00	0,200	0,800
КББ в среднем	82	6,10	41,46	52,44	0,268	0,732
БЧП ¹	50	2,00	8,00	90,00	0,060	0,940
БЧП ²	35	2,86	31,43	65,71	0,186	0,814
БЧП ³	9	0,00	77,78	22,22	0,389	0,611
БЧП ³ ремонт	5	0,00	20,00	80,00	0,100	0,900
БЧП в среднем	99	2,02	23,23	74,75	0,136	0,864

Примечание: Расшифровку аббревиатур для пород свиней см. в методике исследований.

Гомозиготные носители желательного генетического варианта QQ гена IGF-2 были выявлены в обеих породах, однако их количество и % соотношение было разным. Гомозиготные носители желательного генетического варианта QQ были выявлены в двух группах свиней белорусской крупной белой породы на уровне 6,67–8,51 %, также в двух группах свиней белорусской черно-пестрой породы были идентифицированы особи с генотипом QQ с частотой 2,00–2,86 %. В целом частота встречаемости аллеля Q и генотипа QQ в породах белорусской селекции относительно не высока, по всей видимости, это связано с преимущественной селекцией данных пород по воспроизводительным качествам. Высокие частоты аллеля Q наиболее характерны для свиней мясных пород – дюрок, пьетрен, а также для терминальных линий (Лобан Н. А. и др., 2009).

Заключение. Таким образом, в результате проведенных нами исследований, с использованием двух типов ДНК-маркеров дана наиболее полная характеристика аллелофонда и генетического разнообразия свиней крупной белой и черно-пестрой пород белорусской селекции. В целом было показано, что интенсивное развитие молекулярно-генетических методов в последнюю четверть века, открывает новые возможности не только для более глубокого познания генетической структуры популяций свиней, но и для ускорения прогресса в селекционно-племенной работе в свиноводческой отрасли.

ЛИТЕРАТУРА

1. ДНК-маркеры репродуктивных качеств свиноматок пород белорусской селекции / В. А. Дойлидов [и др.] // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2013. – 49 (2–1). – С. 286–290.
2. Серяков, И. С. Репродуктивные качества свиноматок белорусской крупной белой породы и ландрас при скрещивании с хряками мясных пород / И. С. Серяков, О. Г. Цикунова // Животноводство и ветеринарная медицина, 2017, 1 (24). – С. 26–29.
3. Шейко, И. П. Свиноводство Республики Беларусь / И. П. Шейко // Зоотехния. – 2004. – № 1. – С. 23–26.
4. Лобан, Н. А. Карта генетического профиля свиней белорусской крупной белой породы / О. Я. Василюк, Н. А. Лобан // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. – 2010. – № 2. – С. 116–121.
5. Лобан, Н. А. Селекция белорусской крупной белой породы свиней / Н. А. Лобан // Сборник материалов XXII Международной научно-практической конференции. – Минск, 2015. – С. 82–91.
6. Гридюшко, И. Ф. Результаты селекционно-племенной работы со свиньями белорусской черно-пестрой породы / И. Ф. Гридюшко, Е. С. Гридюшко, Т. К. Курбан // Ученые Записки УО ВГАВМ. – 2011. – 47 (1). – С. 350–353.
7. Популяционно-генетическая характеристика свиней пород крупная белая, ландрас и дюрок с использованием микросателлитов В. Р. Харзинова [и др.] // Зоотехния, 2018. – № 4. – С. 2–7.
8. Феномен перекрестной амплификации микросателлитных ДНК-маркеров в исследовании видов отряда Artiodactyla (парнокопытные) / С. А. Котова [и др.] // Труды БГУ. – 2016. – 11 (2). – С. 56–69.
9. Гладырь, Е. А. Изучение генома свиней (*Sus scrofa*) с использованием ДНК-маркеров / Е. А. Гладырь, Л. К. Эрнст, О. В. Костюнина // Сельскохозяйственная биология. – 2009. – № 2. – С. 16–26.
10. Лобан, Н. А. Способ селекции для повышения мяса откормочных качеств свиней на основе скрининга гена IGF-2 и с учетом их полиморфизма / Н. А. Лобан // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2010. – С. 14–19.
11. Костюнина, О. В. Ген IGF-2 – потенциальный ДНК-маркер мясной и откормочной продуктивности свиней / О. В. Костюнина, А. Н. Левиченко, Н. А. Зиновьева // Животноводство России. – 2008. – № 1. – С. 12–14.
12. Peakall R., Smouse P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research — an update. Bioinformatics, 2012, 28: 2537–2539 (doi: 10.1093/bioinformatics/bts460)
13. Костюнина, О. В. Характеристика аллелофонда и анализ ассоциаций ДНК-маркеров с хозяйственно-полезными признаками свиней: дисс. ... д-ра биол. наук: 03.02.07 / О. В. Костюнина, 2016. – 372 с.
14. Зиновьева, Н. А. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь, Л. К. Эрнст, Г. Брем // ВИЖ. – 2002. – 112 с.
15. Полиморфизм гена *IGF2* у свиней мясных пород в Республике Беларусь и его влияние на откормочные и мясные качества Н. А. Лобан [и др.] // Сельскохозяйственная биология, 2009. – № 2. – С. 27–30.