

И.Ф. ГРИДЮШКО, О.Я. ВАСИЛЮК

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СВИНЕЙ БЕЛОРУССКОЙ ЧЁРНО-ПЁСТРОЙ ПОРОДЫ

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

Для оценки генетической структуры и изучения динамики популяционно-генетических процессов в популяциях животных широко используются методы молекулярно-генетического анализа использование которых позволит сохранить и совершенствовать уникальные особенности белорусской чёрно-пёстрой породы свиней. В статье представлены материалы микросателлитного анализа свиней белорусской чёрно-пёстрой породы в КСУП «Племзавод "Ленино"», СГЦ «Вихра» и ОАО «СГЦ "Заречье"», проводимого с целью определения гетерозиготности или генетического разнообразия популяции, степени инбридинга животных в линиях. Свиньи белорусской чёрно-пестрой породы имеют пять локусов (SO005, SO386, SO355, SO155 и SW857) из девяти с подтверждённым достоверным отклонением от состояния генетического равновесия. Наибольшее количество «приватных» аллелей идентифицировано среди животных, разводимых в ОАО «СГЦ "Заречье"». Хряки с установленными «приватными» аллелями в микросателлитных локусах достоверно подтверждают свою линейную принадлежность и являются продолжателями одноименных линий. Это даёт основание рассматривать эти аллели в качестве маркерных для данных линий и использовать в селекции и сохранении породы.

Ключевые слова: селекция, свиньи, белорусская чёрно-пёстрая порода, генетическое тестирование, микросателлиты, локусы, аллели.

I.F. GRIDYUSHKO, O.Y. VASILYUK

GENETIC TRAITS OF THE BELARUSIAN BLACK-AND-WHITE PIG BREED

Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding, Zhodino, Republic of Belarus

Methods of molecular genetic analysis are widely used to assess the genetic structure and study the dynamics of population genetic processes in populations of animals, which will allow to preserve and improve the unique traits of the Belarusian Black-and-White breed of pigs. This paper contains materials of microsatellite analysis of the Belarusian Black-and-White breed at KSUP Plemzavod Lenino, SGC Vikhra and OJSC SGC Zarechye, carried out to determine heterozygosity or genetic diversity of the population, the degree of inbreeding of animals in the lines. The Belarusian Black-

and-White pigs have five loci (SO005, SO386, SO355, SO155 and SW857) out of nine with confirmed significant deviation from the state of genetic equilibrium. The greatest number of “private” alleles was identified among the animals bred in OJSC SGC Zarechye. Boars with determined “private” alleles at microsatellite loci reliably confirm their linear affiliation and are considered to be successors of the same-name lines. This gives reason to consider these alleles as marker alleles for these lines and use them in breed selection and preservation.

Keywords: selection, pigs, Belarusian Black-and-White breed, genetic testing, microsatellites, loci, alleles.

Введение. Во многих странах мира для оценки генетической структуры, а также изучения динамики популяционно-генетических процессов в популяциях домашних животных, широко используются преимущества методов молекулярно-генетического анализа. В частности, в странах ЕС действует программа PiGMa, координирующая оценку генетического разнообразия европейских пород и линий свиней. Основным инструментом в работах европейских исследователей выступают высокополиморфные генетические маркеры – микросателлиты [1]. Микросателлиты, или короткие tandemные (простые) повторы, – варьирующие участки (локусы) в ядерной ДНК и ДНК органелл (митохондрий и пластид), состоящие из tandemно повторяющихся мономеров длиной меньше 9 пар оснований и образующие поля менее 1 тысячи пар оснований, являются широко распространёнными молекулярными маркерами в генетических и геномных исследованиях [2].

Генетическая оценка линий, из которых состоит белорусская чёрно-пёстрая порода свиней, позволит эффективно проводить селекционно-племенную работу, как с самими линиями, так и с породой в целом, с целью сохранения и совершенствования её уникальных породных особенностей (высокая адаптационная способность к технологиям, применяемым в республике, отличные вкусовые качества и технологические свойства свинины). В связи с этим, большое значение приобретают исследования по оценке генетического разнообразия линий белорусской чёрно-пёстрой породы, разводимых в генофондном предприятии, направленные на их сохранение как основных структурных единиц породы, а также сохранение белорусской чёрно-пёстрой породы свиней как уникальной породы, выведенной в Беларуси.

Целью работы являлась оценка на основе микросателлитного анализа генетического разнообразия линий и популяций свиней белорусской чёрно-пёстрой породы.

Материалы и методика исследований. Исследования по генетическому тестированию проводились на свиньях белорусской чёрно-пёстрой породы, которые разводились в КСУП «Племзавод "Ленино"», СГЦ «Вихра» и ОАО «СГЦ "Заречье"». Из оставшейся популяции свиней,

содержащейся в ОАО «СГЦ "Заречье"», протестированы основные хряки различных линий. В качестве биологического материала использовали пробы ушной ткани. Выделение ДНК осуществляли с помощью колонок Nexttec (Nexttec™ Biotechnologie GmbH, Германия) согласно протоколу фирмы-изготовителя. Мультиплексный анализ, включающий 9 STR-локусов (SO155, SO355, SO386, SO005, SW72, SW951, SO101, SW240, SW857), выполняли с использованием методик ВИЖ. Обработку данных капиллярного электрофореза осуществляли путём перевода длин фрагментов в числовое выражение на основании сравнения их подвижности со стандартом ДНК.

Биометрическая обработка материалов исследований проведена методами вариационной статистики по П.Ф. Рокицкому [3] с использованием пакета программы Microsoft Excel с плагином GenAIEx v. 6.5 [4].

Результаты эксперимента и их обсуждение. Проведена оценка генотипов линий свиней белорусской черно-пестрой породы по ДНК-микросателлитам. В исследованных популяциях установлен 51 аллель по 9 микросателлитным локусам. Наибольшей вариабельностью характеризовались локусы SO005 (11 аллелей) и SW857 (7 аллелей), а наименьшей (по 4 аллеля) – локусы SO386, SW951, SO101 и SW72. У хряков, используемых в ОАО «СГЦ "Заречье"», наибольшей вариабельностью характеризовался локус SO005 (6 аллелей), а наименьшей – SW951 (2 аллеля) (таблица 1). При этом общее количество аллелей составило 33. Число аллелей в локусах различных линий варьировало от 1 до 6.

Таблица 1 – Количество аллелей по микросателлитным локусам MC в линиях свиней белорусской черно-пестрой породы в СГЦ «Заречье»

Линия хряков	Кол-во хряков	Локус MC								
		SO155	SO005	SW72	SW951	SO386	SO355	SW240	SW857	SO101
Корелич 913	6	3	6	3	2	3	4	4	4	4
Застон 5085	5	3	5	3	2	3	3	4	4	3
Макет 9343	2	2	4	2	2	3	4	3	4	2
Тик 3037	2	3	3	2	1	2	3	3	4	3
Весёлый 1317	3	3	4	2	1	3	3	3	4	3

В среднем количество аллелей в локусах составляло: в линии Корелича 913 – 3,7; Застона 5085 – 3,3; Макета 9343 – 2,9; Тика 3037 – 2,7; Весёлого 1317 – 2,9 (таблица 2). Таким образом, наиболее генетически гетерогенными являются линии Корелич 913 и Застон 5085, наименее – Тик 3037.

Таблица 2 – Среднее количество аллелей по 9 микросателлитным локусам МС и их полиморфизм в линиях свиней белорусской черно-пестрой породы в СГЦ «Заречье»

Линия хряков	Среднее количество аллелей, (M±m)	Полиморфизм локусов, %
Корелич 913	3,7±0,37	100
Застон 5085	3,3±0,29	100
Макет 9343	2,9±0,31	100
Тик 3037	2,7±0,29	88,9
Весёлый 1317	2,9±0,31	88,9

Проведённые исследования генома у хряков белорусской чёрно-пестрой породы показали полиморфизм используемых ДНК-микросателлитов. Все локусы полиморфны в линиях Корелича 913, Застона 5085 и Макета 9343. В линиях Тика 3037 и Весёлого 1317 данный показатель составил 88,9 %.

Для характеристики аллелофонда определяли среднее число аллелей (Na), число эффективных (Ne) и «приватных» (Pr) аллелей в расчёте на локус, число информативных аллелей или аллелей с частотой встречаемости более 5 %. Показатели аллельного разнообразия в отношении среднего числа аллелей, числа эффективных, информативных, и приватных аллелей по всем исследованным маркерам представлены на рисунке 1.

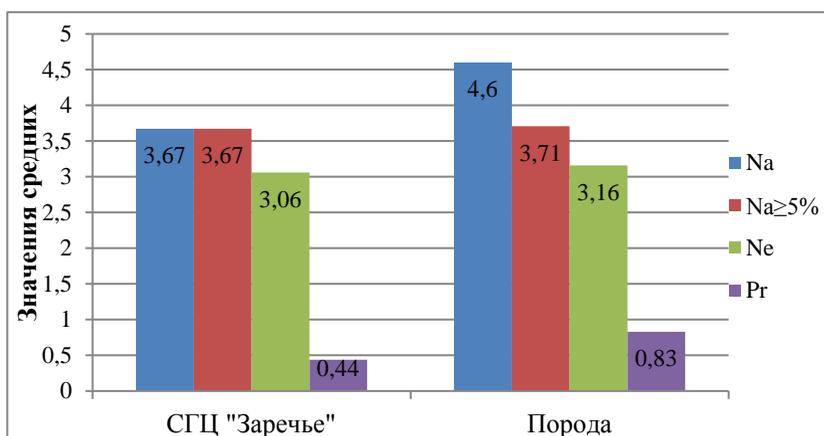


Рисунок 1 – Показатели аллельного разнообразия хряков белорусской чёрно-пестрой породы на основе 9 STR-локусов

Популяция свиней белорусской чёрно-пестрой породы из СГЦ «Заречье» представлена основными хряками пяти линий, в то время как

порода состоит из десяти линий и двух родственных групп, что отразилось на результатах аллельного разнообразия. Среднее число аллелей (N_a) варьировало от $3,67 \pm 0,47$ в ОАО «СГЦ "Заречье"» до $4,60 \pm 0,49$ в породе. Различия составили 9,3 %. Такая же закономерность наблюдалась в отношении эффективного числа аллелей (N_e) и информативных аллелей ($N_{a \geq 5\%}$) на locus: свиньи породы имели максимальные значения показателей ($N_e = 3,16 \pm 0,26$, $N_{a \geq 5\%} = 3,71 \pm 0,25$), в то время у свиной из СГЦ «Заречье» имели значения данных показателей были меньше ($N_e = 3,06 \pm 0,47$, $N_{a \geq 5\%} = 3,67 \pm 0,47$).

Хряки белорусской чёрно-пестрой породы характеризовались наличием уникальных (приватных Pr) аллелей. В СГЦ «Заречье» «приватные» аллели выявлены у хряков линии Макет 9343 в локусах SO005 и SO355. В породе Pr аллели определены у хряков линий Копыль, Славный, Весёлый и родственной группы Застон в локусах SO155, SO005 и SO101. Максимальные значения показателя отмечены в породе ($Pr = 0,83 \pm 0,22$), в СГЦ «Заречье» этот показатель находится на среднем уровне ($Pr = 0,44 \pm 0,24$).

В целом, максимальный уровень аллельного разнообразия выявлен у хряков общей популяции породы, о чём свидетельствуют наибольшие значения всех показателей ($N_a = 4,60 \pm 0,49$, $N_e = 3,16 \pm 0,26$, $N_{a \geq 5\%} = 3,71 \pm 0,25$ и $Pr = 0,83 \pm 0,22$), в сравнении со свиньями из ОАО «СГЦ "Заречье"» ($N_a = 3,67 \pm 0,47$, $N_e = 3,06 \pm 0,47$, $N_{a \geq 5\%} = 3,67 \pm 0,47$ и $Pr = 0,44 \pm 0,24$).

Одна из актуальных задач в свиноводстве – разработка приёмов контроля чистопородности племенных животных. Современные технологии промышленного производства свинины основаны на получении эффекта гетерозиса от скрещивания специализированных пород. Известно, что эффект гетерозиса по воспроизводительным качествам будет наивысшим при сочетании чистых линий. В то же время необходимы новые методы оценки гетерогенности подборов родительских пар, направленных на обеспечение стабильной передачи потомству продуктивных признаков при снижении их вариабельности. В этой связи к числу перспективных приёмов можно отнести использование микросателлитов – tandemно расположенных коротких не кодирующих повторяющихся последовательностей ДНК.

При проверке соотношения частот генотипов к генетическому равновесию Харди-Вайнберга (таблица 3), по всей выборке в породе, два локуса имели высоко-достоверные отклонения ($P < 0,001$) от состояния генетического равновесия: SO005 и SO386.

Статистически значимое отклонение у свиной белорусской чёрно-пестрой породы отмечено в локусах SO355 ($P < 0,01$), SO155 и SW857 ($P < 0,05$). Вместе с тем, свиньи белорусской чёрно-пестрой породы

имели большее количество локусов (пять) с подтверждённым достоверным отклонением от состояния генетического равновесия, что указывает на высокий генетический потенциал, позволяющий проводить селекцию на линейном уровне в породе.

Таблица 3 – Результаты теста на соответствие генетическому равновесию Харди-Вайнберга свиней белорусской черно-пестрой породы

Показатель	Локус MC								
	SO155	SO005	SW72	SW951	SO386	SO355	SW240	SW857	SO101
Уровень достоверности	*	***	ns	ns	***	**	ns	*	ns

Примечание: ns – не достоверно; * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$.

Данные о фактической и ожидаемой степени гетерозиготности в исследованных линиях свиней белорусской чёрно-пёстрой породы представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Фактическая и ожидаемая степени гетерозиготности в исследуемых линиях свиней белорусской чёрно-пёстрой породы в СГЦ «Заречье»

Линия хряков	Степень гетерозиготности		
	наблюдаемая*, Ho (M±m)	ожидаемая, He (M±m)	отклонения, Fis (M±m)
Застон 5085	0,556±0,099	0,573±0,059	0,039±0,114
Тик 3037	0,667±0,144	0,528±0,074	-0,233±0,190
Корелич 913	0,667±0,062	0,594±0,050	-0,130±0,063
Весёлый 1317	0,741±0,134	0,543±0,073	-0,361±0,168
Макет 9343	0,778±0,088	0,569±0,056	-0,378±0,104

Примечание: * последовательность линий дана в порядке увеличения наблюдаемой степени гетерозиготности.

Выявлено, что наблюдаемая степень гетерозиготности у исследованных линий свиней породы варьировала в пределах от 0,556±0,099 (л. Застона 5085) до 0,778±0,088 (л. Макета 9343). Животные л. Корелича 913 характеризовались наибольшим значением ожидаемой гетерозиготности ($He=0,594±0,050$), в то время как хряки л. Тика 3037 имели наименьшее значение показателя ($He=0,528±0,074$). В исследованных линиях хряков, за исключением линии Застона 5085, наблюдалось снижение ожидаемой степени гетерозиготности от наблюдаемой, хотя достоверных различий между фактической и ожидаемой степенями гетерозиготности выявлено не было.

В таблице 5 приведены результаты анализа генетического разнообразия исследуемого стада племенных свиней белорусской чёрно-пёстрой породы, которые разводятся в ОАО «СГЦ "Заречье"».

Таблица 5 – Показатели генетического разнообразия исследуемой популяции свиней в белорусской чёрно-пёстрой породе на основе 9 STR-локусов

Популяция	Наблюдаемая гетерозиготность, (H _o) (M±m)	Ожидаемая гетерозиготность, (H _e) (M±m)	Коэффициент инбридинга (F _{is}) (M±m)
СГЦ «Заречье»	0,667±0,058	0,618±0,040	-0,101±0,097
В среднем по породе	0,666±0,058	0,663±0,049	-0,003±0,040

Наблюдаемая степень гетерозиготности в исследованных группах свиней белорусской чёрно-пёстрой породы находилась практически на одном уровне – 0,667 и 0,666. При этом популяция свиней из СГЦ «Заречье» характеризовалась минимальным значением ожидаемой гетерозиготности (H_e=0,618±0,040). На смещение генетического разнообразия в сторону избытка гетерозигот у племенных свиней основного стада СГЦ «Заречье» указывают отрицательные значения коэффициента инбридинга (F_{is}= -0,101±0,097).

Показатели наблюдаемой гетерозиготности оказались выше, чем ожидаемой, что может свидетельствовать об определённом уровне «чистокровности» исследованных животных в популяции и генеалогической оригинальности линий в породе.

Среди свиней белорусской чёрно-пёстрой породы, относительно значений ожидаемой и наблюдаемой степени гетерозиготности, существенных отличий выявлено не было. При этом порода в целом характеризуется незначительным (0,3 %) избытком гетерозигот (рисунок 2).

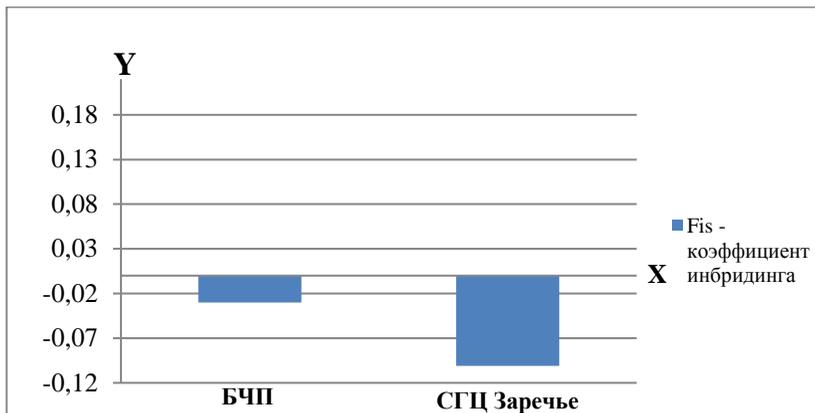


Рисунок 2 – Дефицит («+») / избыток («-») гетерозигот в изучаемых популяциях свиней белорусской чёрно-пёстрой породы на основе 9 STR-локусов

Количество гетерозиготных особей среди хряков-производителей в ОАО «СГЦ "Заречье"» составляет 10,1 %, что указывает на возможность проведения селекционной работы по совершенствованию существующих линий и созданию новых родственных групп в породе.

Заключение. Проведена оценка генотипов линий свиней белорусской чёрно-пёстрой породы по ДНК-микросателлитам.

Микросателлитный анализ позволил определить гетерозиготность или генетическое разнообразие популяции, степень инбридинга животных в линиях. В исследованных популяциях и линиях по 9 использованным микросателлитам (SO155, SO355, SO386, SO005, SW72, SW951, SO101, SW240, SW857) отмечен 51 аллель. Наибольшей вариабельностью характеризовались локусы SO005 (11 аллелей) и SW857 (7 аллелей), а наименьшей (по 4 аллеля) – локусы SO386, SW951, SO101 и SW72. У хряков, используемых в ОАО «СГЦ "Заречье"», наибольшей вариабельностью характеризовался локус SO005 (6 аллелей), а наименьшей – SW951 (2 аллеля). При этом общее количество аллелей составило только 33. Уровень аллельного разнообразия у свиней из ОАО «СГЦ "Заречье"» составил – N_a (среднее число аллелей) = $3,67 \pm 0,47$, N_e (число эффективных аллелей) = $3,06 \pm 0,47$, $N_{a \geq 5\%}$ (число информативных аллелей) = $3,67 \pm 0,47$ и P_r (число «приватных» аллелей) = $0,44 \pm 0,24$.

Свиньи белорусской чёрно-пестрой породы имеют пять локусов (SO005, SO386, SO355, SO155 и SW857) из девяти с подтверждённым достоверным отклонением от состояния генетического равновесия. Наибольшее количество «приватных» аллелей идентифицировано среди животных, разводимых в ОАО «СГЦ "Заречье"» – 3 из 7 во всей породе. Причём, максимальное их количество выявлено в локусе SO005 – 3, а также по одному в локусах SO155, SO101, SO355 и SW951. Хряки с установленными «приватными» аллелями в микросателлитных локусах достоверно подтверждают свою линейную принадлежность и являются продолжателями одноименных линий. Это даёт основание рассматривать эти аллели в качестве маркерных для данных линий и использовать в селекции и сохранении породы.

Литература

1. Nidup, K. Genetic diversity of domestic pigs as revealed by microsatellites: a mini-review / K. Nidup, C. Moran // *Genomics and Quantitative Genetics*. – 2011. – Vol. 2. – P. 5–18.
2. Популяционно-генетическая характеристика свиней пород крупная белая, ландрас и дюрок с использованием микросателлитов / В. Р. Харзинова [и др.] // *Зоотехния*. – 2018. - № 4. – С. 2-7.
3. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Изд. 3-е, испр. – Минск : Высшая школа, 1973. – 320 с.
4. Peakall, R.. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update / R. Peakall, P. E. Smouse // *Bioinformatics*. – 2012. – Vol. 28. – P. 2537-2539. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460.

Поступила 2.03.2023 г.