

И.П. ШЕЙКО¹, Н.В. ПРИСТУПА¹, Е.А. ЯНОВИЧ¹, Т.В. ПОРТНАЯ¹,
Н.В. ЗАЯЦ¹, Т.А. НОВИЦКАЯ²

ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДНК У СВИНЕЙ ПОРОДЫ ДЮРОК

¹Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь

²ОАО «Василишки», а/г Василишки, Республика Беларусь

В статье представлен анализ популяционно-генетических параметров свиной породы дюрок, разводимых в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита», на основе ДНК-МС. Выявлено 68 аллелей. Среднее число аллелей на локус составило 4,53. Средний показатель уровня полиморфности (A_e) – 2,41. Показатель фактической степени гетерозиготности у свиной породы дюрок варьировал от 0,029 (S0355) до 0,875 (S0005). Величина показателя индекса фиксации по 15-ти локусам МС-ДНК составила – 0,016. В изученной популяции 8 из 15 локусов ДНК-МС находятся в состоянии генотипического равновесия. Точность отнесения исследованных животных к «своей» популяции составила 100 %.

Ключевые слова: свиньи, дюрок, локус, аллель, генетическая изменчивость, ДНК-микросателлиты.

I.P. SHEIKO¹, N.V. PRISTUPA¹, E.A. YANOVICH¹, T.V. PORTNAYA¹,
N.V. ZAYATS, T.A. NOVITSKAYA²

POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE DNA LOCI IN DUROC PIGS

¹Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences
of Belarus for Animal Breeding, Zhodino, Republic of Belarus

²OJSC “Vasilishki”, Vasilishki agro-town, Republic of Belarus

The paper presents an analysis of population genetic parameters of Duroc pigs bred at SE “ZhodinoAgroPlemElita”, using microsatellite DNA data. 68 alleles were identified. The average number of alleles per locus amounted to 4.53. The average index of polymorphism level (A_e) was 2.41. The actual heterozygosity index in Duroc pigs ranged from 0.029 (S0355) to 0.875 (S0005). The fixation index value for 15 MS DNA loci was -0.016. In the studied population, 8 of 15 MS DNA loci were in a state of genetic equilibrium. The accuracy of assignment of the studied animals to “their” population was 100 %.

Key words: pigs, Duroc, locus, allele, genetic variability, microsatellite DNA.

Введение. Изучение генетического полиморфизма различных пород сельскохозяйственных животных – актуальное направление современной популяционной генетики. Микросателлиты являются удобными генетическими маркерами в геноме животных, вследствие высокого уровня полиморфизма и стабильного аутосомного кодоминантного наследования [1, 2]. Исследования животных по ДНК-микросателлитам позволяют более точно оценить гетерозиготность популяции, её генетическое разнообразие. С помощью ДНК-МС можно определить степень инбридинга и тем самым снизить вероятность близкородственного спаривания, а также повысить точность учёта результатов по выявлению происхождения животных [3, 4].

Цель работы – изучение популяционно-генетических параметров свиной породы дюрок на основе ДНК-МС.

Материал и методика исследований. Объектом исследования являлись чистопородные свиньи породы дюрок, разводимые в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Минской области. У животных взяты пробы ткани (ушной выщип). В лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» проведён анализ по ДНК-МС. После получения микросателлитных профилей сформирована матрица генотипов в формате Microsoft Excel. Статистическая обработка данных проведена по стандартным методикам [5] с использованием программного обеспечения GenAEx (версия 6.5).

Результаты исследований и их обсуждение. Изучены популяционно-генетические параметры свиной породы дюрок, разводимые в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» на основе ДНК-МС. В исследуемой популяции (n=34) по 15 микросателлитам выявлено 68 аллелей, получены данные, характеризующие полиморфизм каждого из маркеров (рисунки 1-8). В локусе S0228 выявлено 4 аллеля длиной от 224 до 232 п.н. (рисунок 1). Наибольшей частотой встречаемости характеризуется аллель 226 – 0,691. Частота встречаемости аллеля 232 составила 0,279. Реже обнаруживаются аллели 224 и 228 – 0,015.

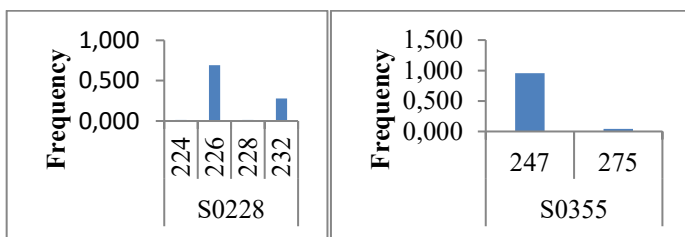


Рисунок 1 – Частоты аллелей в локусах S0228 и S0355

Полиморфизм локуса S0355 представлен 2 аллельными вариантами, с наибольшей частотой аллеля 247 – 0,956. Частота встречаемости аллеля 275 составила 0,044.

При исследовании полиморфизма локуса S0005 выявлено 8 аллелей длиной от 213 до 273 п.н. (рисунок 2). Наиболее часто встречаются аллельные варианты 249 и 251 – 0,203 и 0,359 соответственно. С частотой 0,156 встречается аллельный вариант 215. Частоты встречаемости остальных, определённых в данном локусе, аллелей находились в пределах от 0,016 до 0,094.

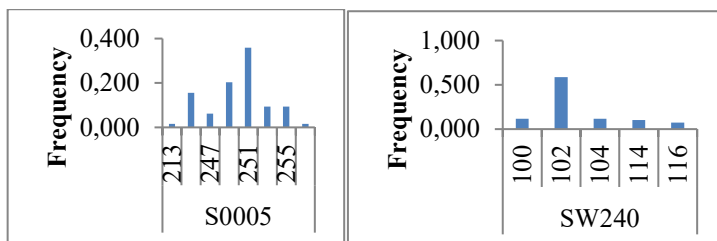


Рисунок 2 – Частоты аллелей в локусах S0005 и SW240

В локусе SW240 представлено 5 аллелей длиной от 100 до 116 п.н. Наиболее часто встречается аллель 102 – 0,588. Частоты встречаемости аллелей 114, 100 и 104 составили 0,103, 0,118 и 0,118 соответственно. Реже встречается аллель 116 – 0,074.

При анализе животных породы дюрок по локусу SW857 выявлено 5 аллельных варианта длиной от 150 до 158 п. н. (рисунок 3). Самая большая частота встречаемости характерна для аллельного варианта 152 – 0,500. Частоты встречаемости аллелей 150 и 156 составили 0,118 и 0,353 соответственно.

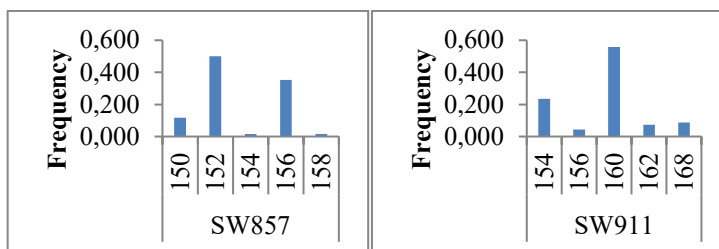


Рисунок 3 – Частоты аллелей в локусах SW857 и SW911

При исследовании полиморфизма локуса SW911 выявлено 5 аллелей, размер которых составляет от 154 до 168 п. н. Чаще всего встречается аллельный вариант 160 – 0,559.

По локусу SW936 выявлено 5 аллелей длиной от 96 до 114 п. н. (рисунок 4). С наибольшей частотой встречаются аллели 108, 110 и 102 – 0,294, 0,294 и 0,368 соответственно. Реже обнаруживаются аллели 114 и 96 – 0,015 и 0,029 соответственно.

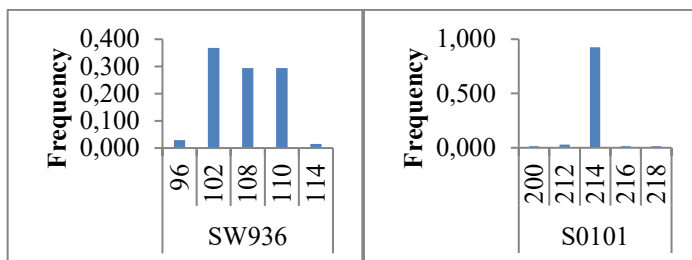


Рисунок 4 – Частоты аллелей в локусах SW936 и S0101

Полиморфизм локуса S0101 представлен 5 аллелями, с наибольшей частотой аллеля 214 – 0,926. Частота встречаемости аллеля 212 составила 0,029, аллелей 200, 216 и 218 – 0,015.

В локусе S0155 выявлено 5 аллелей, с наибольшей частотой аллелей 164 и 158 0,353 и 0,529 соответственно (рисунок 5). Реже встречаются аллельные варианты 162, 152 и 166 – 0,015, 0,029 и 0,074 соответственно.

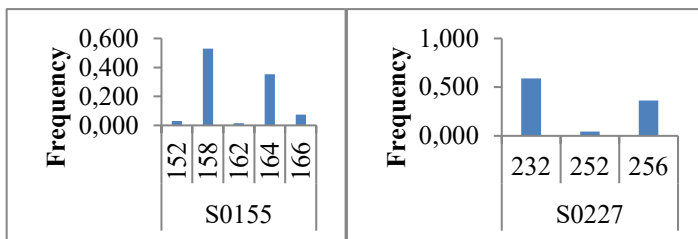


Рисунок 5 – Частоты аллелей в локусах S0155 и S0227

При амплификационном анализе по локусу S0227 обнаружено 3 аллеля длиной от 232 до 256 п. н. Наибольшая частота встречаемости, равная 0,591, выявлена у аллеля 232. С частотой 0,364 встречается аллель 256.

При исследовании полиморфизма локуса S0386 выявлено 4 аллеля (рисунок 6). Чаще встречаются аллельные варианты 177 (0,309) и 169 (0,529). Реже обнаруживаются аллели 167 (0,147) и 159 (0,015).

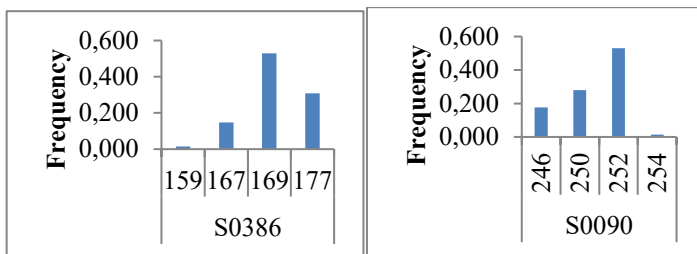


Рисунок 6 – Частоты аллелей в локусах S0386 и S0090

Полиморфизм локуса S0090 представлен 4 аллелями, с наибольшей частотой аллелей 250 и 252 – 0,279 и 0,529 соответственно. Реже встречается аллельный вариант 246 – 0,176.

В локусе SW24 выявлено 5 аллелей размером от 106 до 122 п.н. (рисунок 7). Самая большая частота встречаемости характерна для аллельного варианта 106 – 0,515. Частоты аллелей 118 и 112 составили 0,147 и 0,250 соответственно.

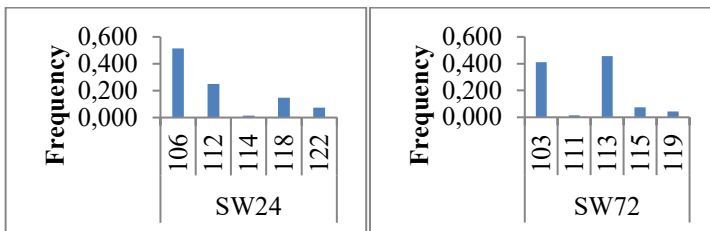


Рисунок 7 – Частоты аллелей в локусах SW24 и SW72

Локус SW72 представлен 5 аллельными вариантами длиной от 103 до 119 п. н. Наибольшей частотой встречаемости характеризуются аллели 103 (0,412) и 113 (0,456). Реже встречаются аллели 111, 119 и 115 – 0,015, 0,044 и 0,074 соответственно.

Полиморфизм локуса SW951 представлен 3 аллелями длиной от 123 до 129 п. н. (рисунок 8). Наиболее часто встречается аллельный вариант 123 – 0,824. Частота встречаемости аллеля 129 составила 0,103. Реже обнаруживается аллельный вариант 125 – 0,074.

На основании полученных результатов выделены следующие типичные для данной популяции аллели: по локусу SW951: аллель 123 (82 %); по локусу SW72: аллель 103 (41 %), аллель 113 (46 %); по локусу S0090: аллель 252 (53 %); по локусу S0386: аллель 177 (31 %), аллель 169 (53 %); по локусу S0227: аллель 256 (36 %), аллель 232 (59 %); по локусу S0155: аллель 164 (35 %), аллель 158 (53 %); по локусу S0101: аллель 214 (93 %); по локусу SW936: аллель 102 (37 %); по локусу SW911: аллель 160 (56 %); по локусу S0355: аллель 247 (96 %); по локусу S0228: аллель 226 (69 %); по локусу SW857: аллель 156 (35 %), аллель 152 (50 %); по локусу SW240: аллель 102 (59 %); по локусу S0005: аллель 251 (36 %); по локусу SW24: аллель 106 (52 %).

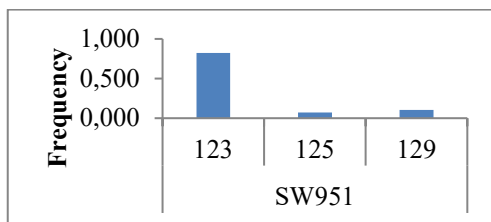


Рисунок 8 – Частоты аллелей в локусе SW951

В результате микросателлитного анализа свиней породы дюрок установлено, что число аллелей варьировало от 2 до 8 на локус. Наибольшей вариабельностью характеризовался локус S0005 (8 аллелей), наименьшей локус S0355 (2 аллеля) (рисунок 9).

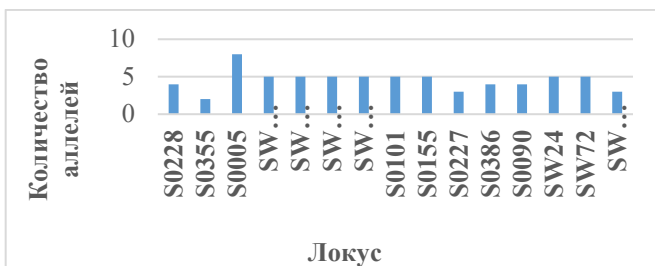


Рисунок 9 – Количество аллелей на каждый локус в исследованной группе свиней породы дюрок

Среднее число аллелей на локус у свиней породы дюрок в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» составило 4,53 (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика полиморфизма изученных STR-локусов

STR-локус	Число аллелей на локус (Na)	Число эффективных аллелей на локус (Ae)	Ожидаемая гетерозиготность (He)	Наблюдаемая гетерозиготность (Ho)	Индекс фиксации (Fis)	Величина информативной ценности (PIC)	Величина генетического равновесия
S0228	4	1,798	0,444	0,529	-0,193	0,450	***
S0355	2	1,092	0,084	0,029	0,651	0,086	***
S0005	8	4,613	0,783	0,875	-0,117	0,796	ns
SW240	5	2,566	0,610	0,618	-0,012	0,619	*
SW857	5	2,572	0,611	0,765	-0,251	0,620	***
SW911	5	2,612	0,617	0,588	0,047	0,626	ns
SW936	5	3,234	0,691	0,824	-0,192	0,701	***
S0101	5	1,163	0,140	0,147	-0,049	0,142	ns
S0155	5	2,431	0,589	0,706	-0,199	0,597	***
S0227	3	2,068	0,517	0,333	0,355	0,524	ns
S0386	4	2,516	0,603	0,500	0,170	0,612	ns
S0090	4	2,566	0,610	0,794	-0,301	0,619	ns
SW24	5	2,820	0,645	0,706	-0,094	0,655	ns
SW72	5	2,598	0,615	0,794	-0,291	0,624	ns
SW951	3	1,440	0,306	0,235	0,231	0,310	*
Среднее	4,53	2,41	0,524	0,563	-0,016	0,532	-

Примечание: ns >0,05; * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

Число эффективных аллелей на локус характеризует информативность анализа и показывает генетическое разнообразие у исследованных групп животных. Наибольшим аллельным разнообразием свиньи породы дюрок характеризовались по локусам SW936 и S0005 – 3,23 и 4,61 соответственно. Средний показатель уровня полиморфности (Ae) составил 2,41.

В вопросах динамики генетического состава популяций важным параметром является гетерозиготность. Степень наблюдаемой гетерозиготности (Ho) является мерой генетической изменчивости в популяции. Частота гетерозигот – важный показатель, поскольку каждая гетерозигота несёт разные аллели и иллюстрирует наличие изменчивости. Для точной оценки изменчивости популяции вводится показатель ожидаемой гетерозиготности (He), рассматривающий уровень аллельного разнообразия. В этой связи нами дана оценка наблюдаемой и ожидаемой степени гетерозиготности, рассчитанная по 15-ти STR-локусам. Оценка степени гетерозиготности показала, что фактическая степень гетерозиготности у свиней породы дюрок варьировала от 0,029 (S0355) до 0,875

(S0005) и в среднем составляла 0,563. Максимальным значением ожидаемого уровня гетерозиготности (H_e) характеризовались локусы SW24 (0,645), SW936 (0,691) и S0005 (0,783), минимальное значение отмечено в локусах S0355 (0,084) и S0101 (0,140). По 10 изученным локусам наблюдаемая гетерозиготность была выше ожидаемой, различия варьировали от 0,7 до 18,4 %. Индекс фиксации инбридинга F_{is} у свиней породы дюрок свидетельствует о том, что по 10 локусам установлены отрицательные показатели от -0,012 до -0,301, что, в свою очередь, указывает на избыток гетерозигот и на неродственное скрещивание, а по остальным локусам отмечается умеренный инбридинг и уровень гетерозиготности имеет положительные значения. Самые высокие значения были по локусам SW951 (0,231), S0227 (0,355) и S0355 (0,651), наименьшее – SW911 (0,047). В изученной популяции по индексу F_{is} случайного спаривания не обнаружено, так как значение $F_{is}=0$ не отмечено. В среднем по 15-ти локусам МС-ДНК индекс фиксации составил -0,016, что в целом свидетельствует об избытке гетерозигот.

Проведён расчёт величины информационной ценности использованных маркеров (PIC). Установлено, что 11 STR-локусов имели величину информативной ценности (PIC) $>0,5$, что указывает на их высокую информативность в качестве молекулярно-генетических маркеров. Наивысшие значения PIC наблюдались в локусах SW936 и S0005 – 0,701 и 0,796 соответственно. Микросателлитные локусы SW951 (0,310) и S0228 (0,450) были умеренно информативными ($0,25 < PIC < 0,5$).

В результате проверки соотношения частот генотипов генетическому равновесию Харди-Вайнберга установлено, что в изученной популяции 8 из 15 использованных в анализе локусов МС-ДНК находится в состоянии генотипического равновесия.

С целью изучения генетического разнообразия каждой особи и популяции в целом, из которой она происходила, оценки вероятности отнесения данной особи или к своей собственной популяции, или к иной использован Assignment-тест (рисунок 10).

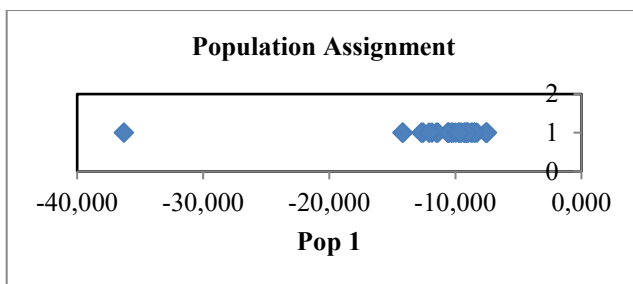


Рисунок 10 – Популяционная принадлежность свиней породы дюрок

По результатам Assignment-теста точность отнесения свиней к «своей» популяции составила 100 %.

Заключение. У свиней породы дюрок, разводимых в ГП «Жоди-ноАгроПлемЭлита», по 15-ти локусам ДНК-МС выявлено 68 аллелей. Среднее число аллелей на локус составило 4,53.

Показатель фактической степени гетерозиготности у свиней варьировал от 0,029 (S0355) до 0,875 (S0005) и в среднем составил 0,563.

Максимальным значением ожидаемого уровня гетерозиготности (He) характеризовались локусы SW24 (0,645), SW936 (0,691) и S0005 (0,783), минимальное значение отмечено в локусе S0355 (0,084) и S0101 (0,140).

По 10-ти локусам установлены отрицательные показатели индекса фиксации инбридинга Fis от -0,012 (SW240) до -0,301 (S0090), что указывает на избыток гетерозигот и на неродственное скрещивание. Средний показатель индекса фиксации по 15-ти локусам МС-ДНК составил -0,016.

Установлено, что 11 STR-локусов имеют величину информативной ценности (PIC)>0,5, что указывает на их высокую информативность. В изученной популяции 8 из 15 локусов ДНК-МС находится в состоянии генотипического равновесия.

Точность отнесения исследованных свиней к «своей» популяции составила 100 %.

Литература

1. Bowling, A. T. The genetics of the horse / A. T. Bowling, A. Ruyinsky. – Wallington, 2000. – 527 p. – ISBN 9780851994291.
2. Bjornstad, G. Breed demarcation and potential for bred allocation of horses assessed by microsatellites marker / G. Bjornstad, K. H. Roed // Animal Genetics. – 2001. – Vol. 32. – P. 59-65. – DOI: 10.1046/j.1365-2052.2001.00705.x.
3. Зиновьева, Н. А. Генетическая экспертиза сельскохозяйственных животных: применение тест-систем на основе микросателлитов / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь // Достижения науки и техники АПК. – 2011. - № 9. – С. 46-48.
4. Микросателлиты и их использование для оценки генетического разнообразия животных / Н. С. Марзанов, М. Ю. Озеров, М. Г. Насибов, Л. К. Марзанова // Сельскохозяйственная биология. – 2004. - № 2. – С. 104-111.
5. Вейр, Б. Анализ генетических данных / Б. Вейр. – Москва : Мир, 1995. – 319 с. – ISBN 5-03-002795-5.

Поступила 24.03.2025 г.