

ПОРІВНЯННЯ ПОПУЛЯЦІЙНОЇ СТРУКТУРИ ЛІНІЙ ВНУТРІШНЬОПОРОДНИХ ТИПІВ УВБ-1 І УВБ-2 ЗА ІМУНОГЕНЕТИЧНИМИ ТА ДНК-МАРКЕРАМИ

С.М. Корінний, науковий співробітник лабораторії генетики
Інститут свинарства імені О.В. Квасницького НААН України

Представлено результати порівняння популяційної структури ліній внутрішньопородних типів УВБ-1 і УВБ-2 за імуногенетичними маркерами та локусами мікросателітної ДНК. Виявлено достовірні відмінності за частотами алелів обох типів молекулярно-генетичних маркерів. Порівняно генетичні дистанції та філогенетичні взаємовідносини за двома типами молекулярно-генетичних маркерів.

Ключові слова: *алель, генетична дистанція, філогенетичні взаємовідносини, лінія, молекулярно-генетичні маркери, групи крові.*

Ефективність селекції у свинарстві значною мірою залежить від точності оцінки генотипу, яка гарантує відбір генетично кращих тварин. Такий підхід дає змогу одержувати тварин з бажаним комплексом ознак продуктивності, резистентності до хвороб, пристосованості до технологічних умов утримання, закріпленню цих ознак та збільшення продуктивності у наступних генераціях.

До недавнього часу широко використовувалися імуногенетичні та біохімічні маркери.

Аналіз джерел вітчизняної та зарубіжної літератури показує, що останнім часом в багатьох країнах значно збільшилось інформації щодо використання мікросателітних маркерів для дослідження генетико-популяційних процесів (для різних біологічних видів як диких, так і свійських тварин), для встановлення походження тварин та батьківства у людини. Проте, майже зовсім відсутня в літературних джерелах інформація щодо співставлення результатів одержаних за імунологічними та мікросателітними маркерами.

Тому метою нашої роботи було порівняння популяційно-генетичних параметрів одержаних за допомогою різних типів молекулярно-генетичних маркерів.

Матеріали і методи. Імуногенетичне типування тварин. Антигени еритроцитів свиней систем А, В, D, Е, F, G, Н, К, L визначали за допомогою специфічних імунних сироваток (м. Армавір Росія), використовуючи реакцію аглютинації, непряму пробу Кумбса і гемолітичний тест [1].

Генотипування свиней за локусами мікросателітної ДНК. Проводили шляхом ампліфікації ДНК в мультиплексній ПЛР. При цьому використовували 2 набори праймерів. Перший дозволяв ампліфікувати локуси S0005 і S0155, другий – S0101, SW875 та SW240. Дані мікросателітні локуси рекомендовані FAO для дослідження генетичної різноманітності [2] та нададі, схвалені дорадчим комітетом FAO-ISAG для дослідження генетичних дистанцій [3].

Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації. Електрофоретичне розділення фрагментів ДНК проводили в 10% денатуруючому поліакріламідному гелі за рекомендаціями (Promega, США).

Популяційно-генетичні дослідження. Основні популяційно-генетичні параметри груп тварин були обчислені за допомогою персональної комп'ютерної техніки в лабораторії генетики ІС УААН з використанням стандартної програми «BYOSIS-1» для даних, одержаних за імуногенетичними маркерами. Розрахунки популяційних параметрів мікросателітних маркерів здійснювали за допомогою програми GENALEX 6. Філогенетичні взаємовідносини розраховували програмами «Neighbor» програмного пакету «PHYLIP» та «MEGA-4».

Результати досліджень. Було представлено лінії свиней внутріпородних типів великої білої породи в нашому типуванні за імуногенетичними та мікросателітними маркерами: Сва-та, Драчуна, Лафету, Кінга (внутрішньопородний тип УВВ-1) та Томаса, Славутича, Драчуна, Давида, Громкого, Вілгаса (внутрішньопородний тип УВВ-2).

При аналізі частот алелів систем імуногенетичних маркерів серед ліній внутріпородного типу УВБ-1 достовірних відмінностей нами не виявлено.

Аналізуючи частоти алелів систем імуногенетичних маркерів ліній внутріпородного типу УВБ-2, нами було виявлено достовірні відмінності, що представлено в таблиці 1.

Таблиця 1

Частоти алелів імуногенетичних маркерів серед ліній внутріпородного типу УВБ-2

Система	Алель	Частоти алелів в досліджених лініях					
		Тоомас n=13	Славутич n=17	Драчун n=15	Давід n=5	Громкий n=6	Вілгас n=8
Н	H ⁰	0,923	0,706*	0,733*	1,000	1,000	1,000
	H ^a	0,077	0,294*	0,267*	0,000	0,000	0,000
К	K ^a	0,038	0,206	0,000*	0,000	0,000	0,000*
В	V ^a	0,808	0,765	0,733*	1,000	0,833	0,750
	V ^b	0,192	0,235	0,267*	0,000	0,167	0,250
Е	E ^{edf}	0,000	0,176*	0,133	0,300*	0,000	0,188

Примітка: *, **, *** P < 0,05, P < 0,01, P < 0,001 відповідно.

Значно більшу кількість достовірних відмінностей зафіксовано за частотою алелів при порівнянні ліній, які належать до різних внутрішньопородних типів УВБ-1 і УВБ-2 (табл.2).

Таким чином, можемо констатувати факт утворення в процесі селекційної роботи алелофондів характерних для ліній різних внутрішньопородних типів, що достовірно відрізняються між собою.

Лінії різних внутрішньопородних типів було проаналізовано також за п'ятьма локусами мікросателітної ДНК.

При аналізі алельного складу ліній внутріпородного типу УВБ-1 п'ятьма локусами мікросателітної ДНК нами виявлено різну кількість алелів та ефективних алелів в різних родинах внутрішньопородних типів УВБ-1 та УВБ-2.

З вищезазначеного можна зробити висновок про те, що різні системи мікросателітних локусів в різних популяціях тварин мають різну інформативність, що виражається різною

кількістю алелів та ефективних алелів досліджуваного локусу в різних популяціях тварин.

Таблиця 2

Достовірні відмінності частот алелів імунгенетичних маркерів між лініями різних внутрішньопородних типів

Система	Алель	Частоти алелів в досліджених лініях	
		тип УВБ-1	тип УВБ-2
К	K ^a	Сват 0,237**	Драчун 0,000
		Драчун 0,350	Драчун 0,000**
			Вілгас 0,000*
			Громкий 0,000*
	Давід 0,000*		
	Кінг 0,214*	Драчун 0,000	
	K ^d	Драчун 0,000	Тоомас 0,192*
			Слаутич 0,176*
			Громкий 0,417*
			Вілгас 0,313*
		Кінг 0,000	Драчун 0,300**
			Вілгас 0,313*
			Громкий 0,417*
		Лафет 0,000	Драчун 0,300*
Вілгас 0,313*			
Громкий 0,417*			
	Драчун 0,300*		
L	L ^{aki}	Драчун 0,050	Драчун 0,400*
E	E ^{aef}	Драчун 0,000	Драчун 0,200*
	E ^{edf}	Кінг 0,286	Тоомас 0,000*
		Сват 0,237	Громкий 0,000*
			Тоомас 0,000**

Примітка: *, **, *** P < 0,05, P < 0,01, P < 0,001 відповідно.

Навіть один локус мікросателітної ДНК може по-різному проявляти інформативність в різних популяціях тварин.

Тому, на нашу думку, слід постійно проводити генетичний моніторинг стад, з подальшим застосуванням одержаних даних в селекційній роботі.

При аналізі частот алелів мікросателітних локусів внутріпородного типу УВБ-1 нами виявлено достовірні відмінності між лініями (табл.3).

Таблиця 3

Достовірні відмінності за частотою алелів мікросателітних маркерів серед ліній внутріпородного типу УВБ-1

Локус	Алель	Частоти алелів в досліджених лініях			
		Лафет (N=7)	Сват (N=17)	Драчун (N=9)	Кінг (N=7)
S0005	4	0,214*	0,000	0,111	0,071
S0155	2	0,571*	0,206	0,278	0,071
	6	0,000	0,176	0,222*	0,214
S0101	5	0,071	0,265*	0,000	0,214
SW240	5	0,214*	0,059	0,111	0,000

Примітка: *, **, *** $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$ відповідно.

Також достовірні відмінності за частотою алелів мікросателітних локусів було виявлено серед ліній внутрішньо породного типу УВБ-2 (табл.4).

Таблиця 4

Достовірні відмінності за частотою алелів мікросателітних маркерів серед ліній внутріпородного типу УВБ-2

Локус	Алель	Частоти алелів в досліджених лініях					
		Славутич	Вілгас	Драчун	Тоомас	Давід	Громкий
S0155	1	0,000	0,000	0,167	0,167	0,200	0,500 */*
	2	0,400 */ ^b	1,000 ^a / ^a / ^b / ^b / ^c	0,389 */ ^b	0,667 */ ^a	0,000 */ ^a / ^b / ^c	0,250^a
	3	0,150	0,000	0,333*	0,167	0,600*	0,250
	4	0,300 */ ^a / ^b / ^c	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SW857	4	0,050	0,167	0,389	0,000*	0,000*	0,000*

Примітка: *, **, *** $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$, відповідно a, b та c. $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$, відповідно

Як і за імуногенетичними маркерами, за локусами мікросателітної ДНК значно більшу кількість достовірних відмінностей за частотою алелів виявлено між лініями різних внутрішньопородних типів (табл.5).

Таблиця 5

Достовірні відмінності частот алелів імуногенетичних маркерів між лініями різних внутрішньопородних типів

Система	Алель	Частоти алелів в досліджених лініях	
		тип УВБ-1	тип УВБ-2
S0005	2	Драчун 0,056*	Громкий 0,625
	4	Сват 0,000	Славутич 0,200*
			Драчун 0,222*
	5	Сват 0,176*/*	Славутич 0,000
Драчун 0,000			
S0155	1	Сват 0,206*	Славутич 0,000
		Драчун 0,222*	
	2	Лафет 0,571*	Вілгас 1,000
		Лафет 0,571*	
		Драчун 0,278**	
		Сват 0,206***	
	3	Кінг 0,071***	Давід 0,600
		Сват 0,118*	
		Драчун 0,000**	
	4	Драчун 0,000	Драчун 0,333*
Кінг 0,286*			
S0101	3	Сват 0,324*	Громкий 0,000
	5	Драчун 0,000	Драчун 0,389*
SW857	1	Кінг 0,286*	Драчун 0,000
	4	Лафет 0,429*	Давід 0,000
		Драчун 0,389*	Тоомас 0,000
SW240	2	Кінг 0,357*	Громкий 0,000
		Лафет 0,571*	Славутич 0,100
	3	Лафет 0,571*	Громкий 0,000*
		Драчун 0,389	Давід 0,000*
	5	Драчун 0,000	Драчун 0,000*
Кінг 0,286*		Тоомас 0,000*	
	7	Лафет 0,000	Славутич 0,000**
			Славутич 0,000
	5	Кінг 0,000	Громкий 0,500*
			Славутич 0,250*
			Драчун 0,444*
			Тоомаса 0,333*
			Славутич 0,400*

Примітка: *, **, *** $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$ відповідно.

Це підтверджує виказану раніше думку, що в процесі селекційної роботи за різними напрямками продуктивності в популяціях тварин відбулися певні зміни щодо алельного складу як імуногенетичних маркерів, так і локусів мікросателітної ДНК.

На основі даних частот алелів нами було розраховано генетичні дистанції. За імуногенетичними маркерами ми використовували дистанції Нея та Роджерса, за частотами алелів локусів мікросателітної ДНК розраховували дистанцію Нея.

Генетичні дистанції між лініями тварин великої білої породи розподілилися таким чином: максимальне значення дистанції Нея відмічено між лініями Лафета типу УВБ-1 та Громкого УВБ-2.

За дистанцією Роджерса мінімальні значення останньої були між лініями Вілгаса УВБ-2 та Громкого УВБ-2, а також Тоомаса і Славутича обидві лінії типу УВБ-2. Максимальне значення даної дистанції зафіксовано між лініями Кінга УВБ-1 та Громкого УВБ-2 (таблиця 6).

Таблиця 6

Генетичні дистанції між лініями різних внутріпородних типів великої білої породи за імуногенетичними маркерами

Лінія	№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Сват-1	1	****	0,000	0,014	0,001	0,032	0,014	0,033	0,035	0,044	0,043
Драчун-1	2	0,100	****	0,000	0,000	0,023	0,008	0,044	0,026	0,041	0,035
Лафет-1	3	0,143	0,115	****	0,000	0,059	0,041	0,045	0,030	0,094	0,044
Кінг-1	4	0,109	0,134	0,137	****	0,060	0,023	0,019	0,032	0,057	0,031
Томас-2	5	0,132	0,143	0,190	0,194	****	0,000	0,013	0,012	0,000	0,002
Славутич-2	6	0,103	0,117	0,183	0,146	0,084	****	0,015	0,029	0,005	0,000
Драчун-2	7	0,144	0,169	0,185	0,140	0,125	0,109	****	0,006	0,002	0,000
Давід-2	8	0,167	0,153	0,162	0,182	0,143	0,176	0,140	****	0,026	0,008
Громкий-2	9	0,153	0,175	0,254	0,200	0,116	0,122	0,121	0,161	****	0,000
Вілгас-2	10	0,153	0,167	0,187	0,162	0,116	0,087	0,084	0,149	0,096	****

Примітка: підкреслено та виділено курсивом максимальні значення, виділено курсивом мінімальне значення. Вище діагоналі дистанції Нея (Nei 1978), нижче діагоналі дистанції Роджерса (Wright, 1978). Світло-сірим кольором позначено дистанції між лініями типу УВБ-1, сірим між лініями типів УВБ-1 та УВБ-2. Темно-сірим – між лініями УВБ-2.

При аналізі генетичних дистанцій Нея між лініями типів УВБ-1 і УВБ-2, найменше середнє значення дистанції Нея було відмічено між лініями внутріпородного типу УВБ-1 (0,003), дещо більшим між лініями УВБ-2 (0,008) та між лініями УВБ-1 і УВБ-2 середнє значення дорівнювало 0,038. Також нами відмічено чотири пари ліній тиу УВБ-1 та п'ять пар ліній УВБ-2, дистанція між якими була 0,000.

З цього приводу можна зробити висновок про недоцільність використання дистанції Нея при дослідженнях ліній за імуногенетичними маркерами.

Щодо дистанцій Роджерса, то середні значення були такими: між лініями УВБ-1 – 0,123, між лініями УВБ-2 – 0,122 і між лініями УВБ-1 та УВБ-2 – 0,165. Це може свідчити про певну генетичну диференціацію ліній як між внутріпородними типами, так і всередині типів.

Генетичні дистанції між лініями внутріпородних типів УВБ-1 та УВБ-2 за локусами мікросатеїтної ДНК представлено в табл.7.

Таблиця 7

Генетичні дистанції між лініями різних внутріпородних типів великої білої породи

Лінії	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 Славутич ²	****								
2 Вілгас ²	0,310	****							
3 Драчун ²	0,275	0,281	****						
4 Тоомас ²	0,169	0,218	0,191	****					
5 Давід ²	0,318	0,739	0,408	0,350	****				
6 Громкий ²	0,244	0,502	0,267	0,221	0,380	****			
7 Лафет	0,537	0,418	0,449	0,444	0,769	0,821	****		
8 Сват	0,433	0,530	0,425	0,435	0,403	0,636	0,313	****	
9 Драчун	0,489	0,486	0,546	0,584	0,609	0,810	0,221	0,235	****
10 Кинг	0,574	0,672	0,390	0,657	0,636	0,656	0,418	0,197	0,383

Примітка: 2 – родини внутріпородного типу УВБ-2. Сирим кольором виділено дистанції між родинами типу УВБ-1, світло-сірим – дистанції між родинами типу УВБ-2, темно-сірим – між родинами типів УВБ-1 та УВБ-2.

Найменшу генетичну дистанцію (0,169) нами виявлено між лініями Славутича і Тоомаса внутріпородного типу УВБ-2.

Максимальна дистанція між лініями даного типу спостерігалась між тваринами ліній Вілгаса і Давіда (0,739). Цікавим виявляється факт максимальної дистанції між лініями внутріпородного типу УВБ-2, що набагато перевищує в більшості випадків дистанції між лініями різних внутріпородних типів великої білої породи. На нашу думку, цей факт можливо пояснити гетерогенністю однієї з ліній, тобто, при створенні однієї із зазначених ліній були залучені представники, що належать до генетично віддалених популяцій великої білої породи, тоді як інші лінії могли створюватись на близькоспорідненій основі.

У тварин внутріпородного типу УВБ-1 мінімальну дистанцію було зафіксовано між лініями Кінга і Свата (0,197), а максимальну (0,418) – між лініями Кінга і Лафета.

Між лініями різних внутріпородних типів мінімальну дистанцію (0,390) виявлено між лініями Кінга – УВБ-2 та Драчуна типу УВБ-1. Тоді як максимальна дистанція спостерігалась між тваринами ліній Лафета внутріпородного типу УВБ-1 і Громкого – УВБ-2.

Філогенетичні взаємовідносини за імуногенетичними маркерами між лініями внутріпородних типів УВБ-1, УВБ-2 (рис.1).

Ми спостерігаємо чітке розділення за кластерами ліній двох внутріпородних типів свиней УВБ-1 та УВБ-2.

Один кластер утворили родини типу УВБ-1, другий кластер – родини внутрішньопородного типу УВБ-2. Це свідчить про те, що внутрішньопородні типи великої білої породи свиней зазнали процесу дивергенції внаслідок селекційної роботи за різними напрямками продуктивності, що наклало свій відбиток на генетичну структуру популяцій, яку ми оцінювали за допомогою імуногенетичного та ДНК маркерування.

Таким чином, імунологічний та мікросателітний аналіз демонструє різну генетичну структуру внутрішньопородних типів УВБ-1 та УВБ-2, що ставить реальне питання про отримання внутрішньопородних гібридів та ефекту гетерозису в результаті поєднань цих типів.

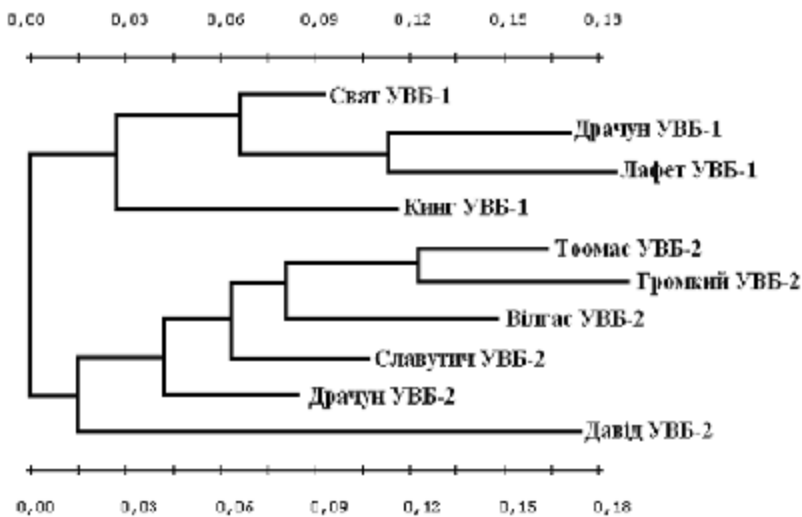


Рис.1. Філогенетичні взаємовідносини між лініями великої білої породи за імуногенетичними маркерами

Філогенетичні взаємини ліній різних внутрішньопородних типів великої білої породи за локусами мікросателітної ДНК представлено на рисунку 2.

Топологія дендрограми вказує на чітку генетичну диференціацію внутрішньопородних типів УВБ-1 та УВБ-2.

При порівнянні дендрограми з реконструкцією, одержаною на основі імуногенетичного типування (рис. 1) можемо зазначити, що неспівпадіння окремих гілок дендрограми, швидше за все, викликано різною природою типів маркерів, які ми залучили для нашого дослідження.

Висновки: 1. Виявлені достовірні відмінності за частотами алелів різних типів молекулярно-генетичних маркерів між лініями внутрішньопородних типів УВБ-1 і УВБ-2 вказують на певні відмінності популяцій великої білої породи свиней.

2. Імунологічний та мікросателітний аналіз демонструє різну генетичну структуру внутрішньопородних типів УВБ-1 та УВБ-2, що ставить реальне питання про отримання вну-

трішньопородних гібридів та ефекту гетерозису в результаті поєднань цих типів.

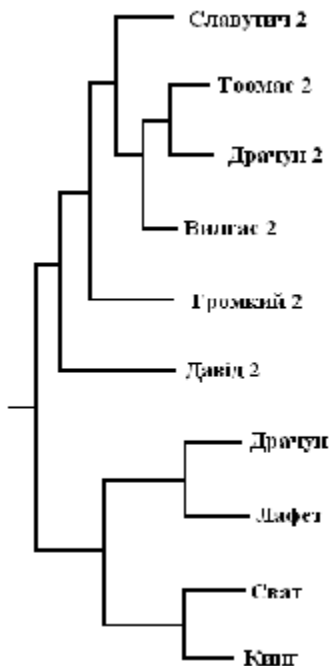


Рис.2. Міжлінійні взаємовідносини різних внутріпородних типів великої білої породи за мікросателітними локусами побудовані методом UPGMA

Примітка: 2 – лінії внутрішньопородного типу УВВ-2

3. Топологія дендрограми вказує на чітку генетичну диференціацію внутрішньопородних типів УВВ-1 та УВВ-2. Це свідчить про те, що внутрішньопородні типи великої білої породи свиней зазнали процесу дивергенції внаслідок селекційної роботи за різними напрямками продуктивності, що наклало свій відбиток на генетичну структуру популяцій, яку ми оцінювали за допомогою імуногенетичного та ДНК маркування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Тихонов В. Н. Иммуногенетика и биохимический полиморфизм домашних и диких свиней / Вилен Николаевич Тихонов. — Новосибирск : Наука, 1991. — 300 с.
2. Barker J. S. F., Hill W. G., Bradley D., Nei M., Fries R., Wayne R. K., Measurement of domestic animal diversity (MoDAD): original working group report, FAO. — Rome, 1998.
3. Laval G., Iannuccelli N., Legault Chr. et al. Genetic diversity of eleven European pig breeds // Genet. Sel. Evol. 2000. — Vol. 32. — P. 187–203.