

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ ПРОИСХОЖДЕНИЯ УКРАИНСКОЙ СТЕПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ СВИНЕЙ

К.Ф. ПОЧЕРНЯЕВ, кандидат биол. наук *Институт свиноводства им.
А.В. Квасницкого УААН*

Б.С. ШАФЕРИВСКИЙ, *Полтавская государственная аграрная
академия, г. Полтава, Украина,*
e-mail: pochemyaev@mail.ru; vipilp@rambler.ru

Обоснование исследований. Украинская степная белая порода свиней (УСБ) на современном этапе своего развития относится к локальной, малочисленной породе, и по классификации ФАО находится под угрозой исчезновения. Потеря или катастрофическое уменьшение численности местных популяций, в том числе и УСБ на наш взгляд вызвано изменением социально-экономических условий. Сегодня, для экономически успешного хозяйствования лучше всего подходят породы, главной характеристикой которых являются высокая энергия роста в сочетании с минимальной затратой биологически полноценного корма и незначительным отложением жира. Это существенно повышает рентабельность отрасли, но, к сожалению, отрицательно сказывается на качестве мяса. О качестве сала речь не идет вообще. Местные породы пока еще остаются носителями таких признаков, как прочность конституции, стойкость к стрессу, высокая резистентность, приспособленность к условиям содержания, способность эффективно использовать сочные и грубые корма и пастбища. Они имеют высокие вкусовые качества мяса и сала. Таким образом, местные породы являются резервом генных комплексов, которые на современном этапе развития общества становятся не востребованными, а наша недалекость ведет к потере ценного генофонда. Сегодня украинская степная белая порода еще может быть сохранена не только в виде криобанка эмбрионов, яйцеклеток и спермы, но и как чистопородная форма, приносящая доход при использовании ее в системе гибридизации. В связи с этим выяснение вопроса ее происхождения может быть весьма полезным. Это может быть в какой то мере решено с использованием полиморфизма митохондриальной ДНК (мтДНК). За последние 10 лет накопились значительные данные о однонуклеотидных полиморфизмах мтДНК характерных для домашних свиней и подвидов дикого кабана, которые можно использовать для идентификации МТ гаплотипов. То, что наследование митохондриального генома происходит только по материнской линии дает возможность через ряд поколений различить в современной породе предковые материнские формы и таким образом решать вопросы происхождения.

Методика. Образцы крови 5 хряков представителей линий Крона,

Аспекта, Бойца, Арсенала и Нового, а также 5 свиноматок представительниц основных генеалогических семейств Лучистой, Надежной, Арки, Мастерницы и Аллеи УСБ породы были взяты на племзаводе "Аскания-Нова" в 2006 году.

Выделение ДНК проводили с использованием ионообменной смолы Chelex 100 [1]. Амплификацию фрагмента контролирующего региона, который находится между позициями 15534 и 15962 митохондриального (МТ) генома свиньи, проводили на программированном термостате ТЕРЦИК-2 (ДНК-технологии, Россия) с использованием набора реагентов "Тапотили" (ГосНИИ генетика, Россия) и олигонуклеотидных праймеров собственного дизайна [2, 3]. Аликвоту продукта ПЦР (10 мкл) гидролизировали эндонуклеазой *Tas I* (MBT Fermentas, Литва). Продукты амплификации и гидролиза ДНК анализировали в 8% полиакриламидном геле. Как маркер молекулярной массы использовали ДНК плазмиды *pBlueScript*, гидролизованной эндонуклеазой *Msp I*. Визуализацию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли путем окрашивания бромистым этидием и фотографированием на трансиллюминаторе в ультрафиолетовом свете.

Результаты. В результате анализа митохондриальной ДНК свиней украинской степной белой породы было определено 3 митохондриальных гаплотипа. Результаты гаплотипирования представлены на (рис. 1).

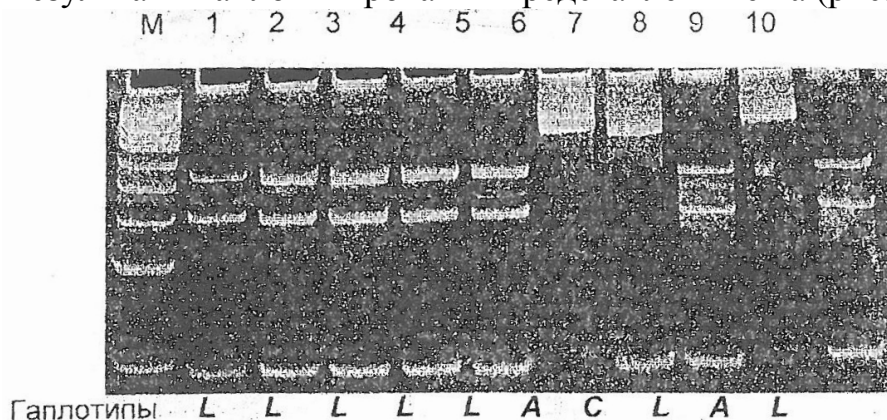


Рисунок 1. Электрофорез в 8% полиакриламидном геле фрагмента контролирующего региона митохондриальной ДНК свиней украинской степной белой породы (УСБ) амплифицированного в ПЦР и рестрицированного эндонуклеазой *Tas I*. Митохондриальная ДНК УСБ хряки -1,2,3,4,5; свиноматки - 6,7,8,9,10; М - маркер молекулярной массы ДНК *cBlueScriptIMsp I***

Данный рестриктный полиморфизм *Tas I* МТ генома формируется за счет замен в нуклеотидных позициях 15580, 15616, 15714 и 15758 некодирующего региона митохондриальной ДНК свиньи. Для основных евро-американских пород и подвидов дикого кабана установлены характерные митохондриальные гаплотипы [4-7]. Как было сказано выше, среди свиней УСБ породы обнаружены 3 митохондриальные гаплотипы – А, С, L, которые соответствуют некоторым породам и популяциям дикого кабана (рис. 2).

У дикого кабана Украины был определен митохондриальный гаплотип С [8], такой же как и у популяций дикого кабана Польши и Франции.

Как известно, история создания украинской степной белой породы свиней в Аскания – Нова началось от шести простых маток, отобранных в соседнем хозяйстве Дорнбург, которые имели все признаки простых местных свиней, и двух чистопородных хряков английской белой породы. Вместе с тем, в работах М.Ф. Иванова отмечается, что не все местные свиньи одинаковые: некоторые из них отличались несколько лучшими формами и несколько большими размерами. Возможно, некоторые из них несли отпечаток культурной породы, когда-то в небольшом количестве прилитой к предкам этих свиней. Эти свиньи и были взяты М.Ф. Ивановым для гибридизации с целью получения новой породы [9].

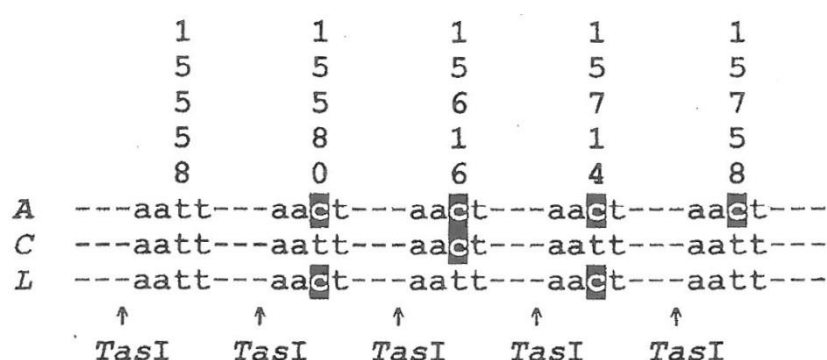


Рисунок 2. Митохондриальные гаплотипы обнаруженные у свиней УСБ породы и полиморфные нуклеотидные позиции, которые их определяют [4 - 7]: А – мангалица, дюркок тип 2 дикий кабан Польши, Франции; С– гемпшир, уэльс (тип 1), ландрас тип 3 дикий кабан Польши, Франции; L–дикий кабан Бельгии, крупная белая порода (европейский материнский тип)

Из полученных результатов исследования полиморфизма митохондриальной ДНК возможно предположить, что вклад в создание УСБ породы сделали не только хряки крупной белой, но и свиноматки этой породы. Возможно, это состоялось еще к началу работ по созданию породы, на что указывает М.Ф. Иванов упоминая о улучшенных местных свиньях юга Украины. Это нашло подтверждение в обнаруженном гаплотипе L у исследованных животных УСБ породы. Как известно из литературных источников, он присущий как крупной белой породе европейского материнского типа, так и диким свиньям из Бельгии.

Остальная часть материнской основы УСБ породы представленная гаплотипами А и С. Поскольку митохондриальная ДНК передается исключительно по материнской линии, а сведений об использовании свиноматок различных пород для улучшения УСБ не обнаружено, это дает нам возможность предположить, что гаплотипы А и С происходят от дикого кабана. Возможно подвиды дикого кабана с гаплотипами А и С, были дикими предками свиней, одомашненных на территории Украины. Со временем

вместе с переселенцами из северных и центральных районов Украины они попали на Херсонщину.

Выводы

1. Среди свиней украинской степной белой породы определено 3 митохондриальных гаплотипа, два из которых возможно происходят от местных свиней, а один от крупной белой породы;
2. Вклад в создание украинской степной белой породы сделали не только хряки, но и свиноматки крупной белой породы свиней.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Walsh P.S., Metzger D.A., Higuchi R. Chelex 100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material // BioTechniques. – 1991. – №10. – P. 506.
2. Почерняев К.Ф. Спосіб визначення мітохондріальних гаплотипів свиней / Деклараційний патент України №A61D7/00 з пріоритетом від 16.05.2005, бюлетень № 5.
3. Почерняев К.Ф., Визначення гаплотипів свиней з використанням методу породоспецифічного ПЛР–ПДРФ мітохондріальної ДНК // Ветеринарна біотехнологія. – 2005. – №6. – С.138 – 143.
4. Giuffra E., Kijas J. M.H., Amarger V., Carlborg O. Jeon J.-T., Andersson L. The Origin of the Domestic Pig: Independent Domestication and Subsequent Introgression // Genetics. – 2000. – V. 154. P. 1785–1791.
5. Okumura N, Kurosawa Y, Kobayashi E, Watanobe T, Ishiguro N, Yasue H, Mitsuhashi T. Genetic relationship amongst the major noncoding regions of mitochondrial DNAs in wild boars and several breeds of domesticated pigs // Anim. Genet. – 2001. – V. 32. P. 139–147.
6. Kim K-1., Lee J-H., Li K., Zhang Y-P., Lee S-S., Gongora J., Moran C. Phylogenetic relationships of Asian and European pig breeds determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism // Anim. Genet. – 2002 – V.33. P. 19–25.
7. Fang M., Berg F., Ducos A. and Andersson L. Mitochondrial haplotypes of European wild boars with 2n=36 are closely related to those of European domestic pigs with 2n=38 // Animal genetics. – 2006 –37. – P. 459–464.
8. Материалы конференции молодых ученых «Актуальные проблемы животноводства, Днепропетровск 2007 – в печати.
9. Иванов М.Ф. Сочинения. Работы по свиноводству 1915–1936. – М.: Сельхозгиз. – 1938. – Т.2. – 137 с.

К.Ф. ПОЧЕРНЯЕВ. Б.С. ШАФЕРИВСКИЙ

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА
МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ
ПРОИСХОЖДЕНИЯ УКРАИНСКОЙ СТЕПНОЙ БЕЛОЙ
ПОРОДЫ СВИНЕЙ**

Полиморфизм митохондриального генома и литературные данные были использованы для реконструкции происхождения украинской степной белой породы свиней. В результате анализа митохондриальной ДНК животных украинской степной белой породы определено 3 гаплотипа. Гаплотип *L* характерный для крупной белой породы европейского типа и дикого кабана Бельгии. Гаплотип *C* – дикому кабану Польши, Франции и породе ландрас. Гаплотип *A* – мангалице, дюрку (тип 2) дикому кабану Польши, Франции. Поскольку митохондриальная ДНК наследуется исключительно по материнской линии, сделано предположение, что вклад в украинскую степную белую породу сделали не только хряки, но и свиноматки крупной белой породы. Гаплотипы *A* и *C* возможно происходят от местных свиней.

K.F. POCHERNYAEV, B.S. SHAFERIVSKY.

**USING POLYMORPHISM OF MITOCHONDRIAL DNA FOR
RECONSTRUCTION OF ORIGIN IN THE UKRAINIAN
STEPPE WHITE PIGS**

SUMMARY

Polymorphisms of mitochondrial genome and literary date have been used for reconstruction of origin in the Ukrainian steppe white pig breed. 3 haplotypes have been detected as a result of mitochondrial DNA analysis in the Ukrainian Steppe White pigs. Haplotype *L* is typical of the Large white breed of the European type and of the Belgian Wild boar. Haplotype *A* is typical of the Polish, French Wild boar and of the Mangalica, Duroc (type 2). Haplotype *C* is typical of the Polish and French Wild boar and of the Landrace. As far as the mitochondrial DNA is inherited in maternal line only it has been proposed that not only, Large White boars but also Large White sows made a contribution to the Ukrainian Steppe White breed of pigs. Haplotype *A* and haplotype *C* may originate from local pigs.