

Використання ДНК-технологій для оптимізації селекційного процесу в малочисленних популяціях свиней

*Войтенко С.Л., Метлицька О.І., кандидати сільськогосподарських наук
Почерняєв К.Ф., кандидат біологічних наук
Вишневський Л.В, пошукач, Петренко С.М., аспірант
Інститут свинарства ім. О.В.Квасницького УААН*

Викладені результати досліджень про можливість залучення сучасних ДНК-технологій для оцінки свиней миргородської породи, зокрема встановлення походження та генетико-популяційних характеристик. Проведено порівняння генетичних та зоотехнічних методів визначення подібності кнурів і свиноматок селекційних стад. Доведено доцільність систематичного контролю походження свиней в малочисельних популяціях та використання методу програмованого підбору батьківських пар за результатами ДНК-тестів.

Постановка проблеми. Класичні вітчизняні породи свиней - миргородська, українська степова біла та українська степова ряба, які до 70-х років ХХ століття були одними з кращих і здатних задовольнити потреби виробництва свинини, стали, порівняно із м'ясними генотипами вітчизняної і зарубіжної селекції, низькопродуктивними. Дійсно, місцеві породи, які використовували випас, пристосовувались до умов утримання та годівлі, мали високий вихід сала в туші та високу якість м'яса за рахунок жирових прошарків на етапі інтенсифікації галузі не мають суттєвого значення. Дійсно, тварини цих порід не можуть конкурувати за інтенсивністю росту, виходом м'яса, багатоплідністю тощо. Враховуючи, що порода –це засіб виробництва і її удосконаленість адекватна соціально- економічним змінам у суспільстві, можливо зробити висновок про закономірність скорочення локальних вітчизняних порід свиней через неможливість їх якісного поліпшення до вимог високопродуктивних генотипів м'ясного напрямку продуктивності.

Збереження генофонду локальних зникаючих порід свиней України є складовою частиною закону України „Про племінну справу у тваринництві”, а розробка форм і методів збереження, критеріїв добору і підбору тварин у цих популяціях, поліпшення племінної цінності особин та ефективного використання відносяться до першочергових проблем збереження малочисельних популяцій.

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв’язання проблеми. За даними [1] селекція в чистопорідних стадах навіть за 50% добору оцінених тварин і швидкій зміні поколінь -2,3-3 роки на протязі чотирьох поколінь дозволить через 10 років підвищити середньодобовий приріст тільки на 28г, знизити товщину шпику на 3 мм і витрати корму на 1 кг приросту - на ,016 корм. од.

Цілком зрозуміло, що за таких темпів підвищення продуктивності при використанні традиційних методів селекції продовжуватиметься дуже довго. Необхідною умовою підвищення ефективності племінної роботи стає залучення ряду генетичних методів оцінки тварин, що спроможні прискорити селекційний процес.

Використання методів біохімії і молекулярної генетики, а саме: визначення груп крові, електрофорез поліморфних білків, цитогенетичні дослідження, виявлення генетичного поліморфізму на рівні ДНК тощо суттєво допомагає у вирішенні деяких проблем генетики тварин [2,3,4]. Насамперед, типування тварин за групами крові дозволяє проводити їх ідентифікацію і встановлювати батьківство [5,6], виявляти сімейні маркери та їх зв'язок з продуктивністю. Про незаперечну роль сучасних генетичних методів у практиці тваринництва при збереженні зникаючих популяцій вказано у роботі [7].

Відкриття в області ДНК-технологій дозволили по новому підійти до селекції тварин. В останні роки досить інтенсивно використовуються маркерні системи, що базуються на дослідженнях варіабельності ДНК[8,9]. Одними з найбільш перспективних для популяційної генетики можна

вважати маркери, створені на основі мікросателітних послідовностей SSR. На думку [10] за допомогою генетичної ISSR-S2 системи можна охарактеризувати динаміку популяційно-генетичних процесів, що відбуваються в стадах свиней в залежності від природних умов і впливу штучного добору.

Розведення свиней в малочисельних популяціях вимагає високого рівня селекційної роботи. Одним з важливих її елементів є підбір батьківських пар, що проводиться зазвичай на основі оцінки тварин за походженням, генотипом, лінійної належності тощо. Непоодинокі випадки не підтвердження походження тварин в стадах змушують застосовувати сучасні генетичні методи для контролю селекційного процесу в таких невеликих за чисельність породах, як миргородська. Для розробки ефективного методу підбору тварин за генетичними дистанціями використовується метод ISSR-S2, S1 типування [11].

Використання програмованого добору батьківських пар овець на основі молекулярно-генетичних маркерів з урахуванням величини індексу генетичної схожості дозволило виявити та встановити позитивну дію різноякісного добору на живу масу і настриг вовни у порівнянні з тваринами гомогенного добору [12].

Таким чином, огляд літературних джерел засвідчує необхідність використання новітніх генетичних методів для прискорення селекційного процесу, особливо при внутріпородному удосконаленні популяції та збереженні її генотипу.

Мета досліджень та методика їх проведення. Науково-дослідна робота виконана в Інституті свинарства ім. О.В.Квасницького УААН (№ держреєстрації 0106U004214). Метою дослідження було порівняння методів підбору тварин з використанням зоотехнічних та генетичних методів. Для досягнення цієї мети були виконані наступні завдання: проведення ДНК-експертизи походження поросят, аналіз генеалогічної структури породи та визначення генетичних дистанцій між кнурами і свиноматками.

Встановлення батьківства проводили методом поліморфізму довжин ампліфікованих фрагментів (ПДАФ) мікросателітних локусів ДНК. В різних групах свиней були досліджені наступні мікросателітні локуси ДНК: S0005, S0155, SW24, S0090, S0101, SW857, SW240.

Для генетико-популяційних досліджень був застосований метод ISSR з використанням олігонуклеотидів S1 – (AGC)₆C та S2 –(AGC)₆G. Генетичну подібність між окремими тваринами визначали за допомогою програми Gelstats [Pelikan S., Rogstad S. H., 1996] в якій використано алгоритм Лінча [Lynch M. 1990].

Генетичну подібність кнура та свиноматки визначали на підставі аналізу родоводів за методом Шапоружа.

Результати досліджень. На даному етапі миргородська порода свиней зосереджена у 8 племінних господарствах Полтавської, Сумської, Чернігівської, Київської, Хмельницької та Тернопільської областей, у яких налічується 554 основних свиноматок та 68 основних кнурів, які віднесені до 9 ліній і 18 родин. Серед кнурів найбільшу питому масу в породі мають лінії : Ловчика (12,3%), Камиша (10,8%), Швидкого (9,2%). Збільшується чисельність кнурів новостворюваної лінії Муромця (7,7%), але до малочисельних в породі віднесено лінію Оригінального, що включає одного основного та одного перевіряемого кнура, а також Дніпра – 3 кнури (4,6%). Серед родин свиноматок виранжуванню підлягають родини Ели і Щирої, а до родин, що найбільш інтенсивно залучені в селекційний процес віднесені родини: Зозулі, Матіоли, Русалки, Смородини, Мальви. Селекція свиней миргородської породи методами комплексної та переважаної селекції дала позитивні результати. За комплексом ознак до класу еліта в породі віднесено 94% кнурів та 86% свиноматок. В селекційних стадах кнури у віці 24 місяці консолідовані за довжиною тулубу (169 см) і живою масою (271 кг), але зазнають значної мінливості показників розвитку в межах племінних репродукторів, відповідно, 169-175 см та 262-291 кг. Свиноматки за розвитком мають подібну тенденцію. Відтворювальна здатність свиноматок в

межах племінних господарств зазнає більш відчутної різниці. Так, багатоплідність вар'ює в межах 9 -10,1 голови, маса гнізда поросят в 2 місяці -160 -201 кг. Тобто за цієї ознакою в стадах спостерігається значна мінливість, що узгоджується з продуктивністю окремих родин, методами розведення та рівнем годівлі свиней.. Оцінка свиней за власною продуктивністю засвідчила, що при різних середньодобових приростах на вирощуванні 398-594 г, вік досягнення живої маси 100 кг становить 165-220 днів.

Разом з тим, традиційні методи розведення в цих породах уже не можуть забезпечити належного рівня ефективності селекції, яка в значній мірі залежить від встановлення походження, точності у записах родоводу та можливості ідентифікації племінних свиней. Встановлення походження племінних тварин за допомогою імуногенетичних досліджень підтвердило великий відсоток невірних записів в племінних документах (від 4 до 60%), що суттєво впливало на рівень селекційної роботи, не дозволяло в багатьох випадках отримувати очікувану продуктивність тварин, закріплювати певні бажані ознаки в генераціях.

Розведення свиней в малочисельних популяціях вимагає високого рівня селекційної роботи, проведення якої ускладнюється наявністю навіть в провідних селекційних стадах помилок в родоводах тварин, наявністю тварин, що мають однакові номери. Особливе занепокоєння викликають тварини, що мають рвані вуха, тобто індивідуальний номер даної свині невідомий, а отже і її походження, але вона використовується в стаді. Таких порушень в стадах по розведенню свиней миргородської породи - 3-9%. Високий рівень помилок родоводу приводить до прояву неконтрольованого інбридингу. В породі з обмеженою чисельністю це питання стоїть гостро саме по собі. Крім того, це приводить до неможливості виявлення поліпшувачів серед кнурів та свиноматок і, взагалі, невідповідності принципам лінійного розведення. Присутність в стадах тварин з сумнівним походженням знижує ефективність селекції та приводить до виродження

породи в цілому. З цих причин систематичне встановлення походження свиней в провідних селекційних стадах по миргородській породі на даному етапі досить актуальне. Результати досліджень по встановленню походження свиней в стадах 2-х племзаводів виявили, що у 4,3% тварин походження виключається взагалі, а 4,3%- підтверджується тільки з боку батька. Тобто має місце порушення ведення зоотехнічного обліку, що не припустиме при веденні племінної роботи зі стадом.

Наявність в стадах тварин з сумнівним походженням змусили проводити пошуки більш ефективних методів добору, ніж традиційні зоотехнічні. Використовуючи сучасні генетичні методи типування тварин, а саме метод ISSR, встановили генетичну подібність між кнурами та свиноматками в заводських стадах: „Мрія-1” Чернігівської та ім.Декабристів Полтавської областей. Одержані дані порівняли із ступенем подібності тварин, визначеним за методом Шапоружа. В більшості порівнюваних варіантів одержані дані не узгоджуються між собою, причому без певної закономірності.

Встановлено, що в племзаводі «Мрія-1» найбільш подібними є кнури і свиноматки з показником генетичної схожості 0,7229-0,7366. Мінімальний коефіцієнт вар'ює в межах 0,4848-0,4818. Проте тварин з таким коефіцієнтом не більше 1%. Переважна більшість кнурів і свиноматок має індекс подібності 0,51-0,69. Серед 168 проаналізованих поєднань кнурів та свиноматок тільки 12 (7,1%) має індекс подібності вищий, ніж 0,7000. Тобто при внутріпородному підборі поєднання кнурів і свиноматок, що мають коефіцієнт схожості, вищий, ніж 0,7000, можна вважати генетично гомогенними. І тільки 5 поєднань тварин має індекс подібності між собою менший, ніж 0,5000 (0,4814-0,4870) тобто тільки 2,9% проаналізованих тварин можна віднести до генетично гетерогенних.

За результатами одержаних досліджень по визначенню генетичної подібності між тваринами в селекційному стаді племзаводу ім.Декабристів виявлено, що показник схожості має більш широкий діапазон -0,8622-0,4411,

при цьому тільки 5,6% кнурів і свиноматок можна віднести до генетично віддалених, оскільки показник генетичної подібності у них знаходиться в межах 0,4411-0,4814.

Розведення тварин закритою популяцією, що має місце в племзаводі ім. Декабристів звужує різноманітність тварин за генотипом, підтвердженням чого слугує наявність серед 126 проаналізованих поєднань 38,9 % тварин, що генетично подібні між собою. Рівень схожості у таких поєднань – вищий ніж 0,7000. Проте як і в племзаводу „Мрія-1” переважна більшість кнурів і свиноматок мають коефіцієнт схожості- 0,5000-0,7000. Ідентичних тварин серед особин племзаводу ім.Декабристів, як і племзаводу «Мрія-1» не виявлено, як і абсолютно різних, що можна пояснити високим ступенем кросування ліній у заводських стадах.

Одержані дані генетичної схожості на індивідуальному рівні порівнювали з ступенем подібності тварин, визначеним за методом Шапоружа. Суть даного методу полягає у встановленні подібності тварин в залежності від розміщення їх в рядах родоводу. В племзаводі „Мрія-1” Чернігівської області більшість порівнюваних варіантів не узгоджуються між собою, причому без певної закономірності. Кнури і свиноматки, що згідно класифікації Шапоружа неспоріднені між собою за даними генетичного аналізу подібні в досить значних межах: 0,7071; 0,5883; 0,5470; 0,4643 і т.д. Спорідненість по Шапоружу 2-2 відповідає індексу схожості – 0,6471; 0,6025; 0,5812; 0,5583 і т.д. Віддалена подібність (3-3), визначена за зоотехнічними методами, також не узгоджується з даними, одержаними з залученням ISSR методу. Кнури і свиноматки в цьому випадку розташовані один від одного на відстані 0,6032; 0,5781 і 0,5079. А тварини, спорідненість яких за зоотехнічними методами досить висока -50%, за даними генетичної оцінки розташовані досить далеко один від одного - 0,4814.

В племзаводі ім. Декабристів тенденція невідповідності встановлення ідентичності тварин за генетичними та зоотехнічними методами збереглася подібно до вищеназваного господарства. Відсутність спорідненості між

кнурми та свиноматками, встановлена за методом Шапоружа, дещо не узгоджується згідно тестування ISSR-S2, S1 . Рівень генетичної схожості між тваринами, які не подібні між собою за даними родоводів має межі 0,8072-0,5074, тобто кнури і свиноматки з високим рівнем генетичної ідентичності (верхня межа). Досить висока подібність кнурів і свиноматок, встановлена за зоотехнічним методом (ступінь інбридингу 50%) з огляду на коефіцієнт генетичної схожості має середній показник 0,6284-0,5303. Для прикладу в племзаводі ім. Декабристів – 0,4814. Спорідненість тварин в ступені 2-2 (по Шапоружу) відповідає значенню за генетичним методом 0,4519-0,70165 і т.д. Таким чином, узагальнені результати порівняння зоотехнічних та генетичних методів при встановленні ідентичності тварин миргородської породи засвідчили доцільність застосування останнього, як найбільш точного з огляду на одержані результати. Для збереження свиней миргородської породи, не використання стихійного інбридингу, що матиме місце при доборі пар згідно зоотехнічного методу визначення спорідненості, потрібно впровадити сучасні методи ДНК-технології для встановлення походження та ідентичності тварин. З метою підтвердження теоретичних висновків проведено підбір батьківських пар з урахуванням ступеня генетичної спорідненості.

Висновки. 1. Теоретичне обґрунтування використання сучасних ДНК-технологій для встановлення походження свиней в малочисленних популяціях та розробки плану підбору на підставі встановлення генетичної різниці між тваринами забезпечить одержання ефекту гетерозису при внутріпородній селекції. При цьому в селекційний процес не бажано залучати тварин, подібність між якими вища, ніж 0,700.

2. Для збереження біологічних ознак породи доцільно використовувати генетичний контроль селекційного процесу, налагодити чіткий облік та контроль походження.

Бібліографія

1. Лебедев Ю.В., Селезньова П.П. Экспериментальная оценка генетического улучшения продуктивности свиней // Бюл. Научных работ.-ВИЖ-Дубровицы, 1982.-Вып. 65.-С.31-34
2. Mucha A. Proba oceny frekwencji genu HALn w krajowym poglowie swen pietreain // Prace i Materialy Zootechniczne Zeszyt shesyalny.- 1998.- №8
3. Епишко Т.И., Шейко и.П., Калашникова Л.И. Использование маркерних генов при диагностике стрессустойчивости свиней белорусской мясной породы // Материалы 10-й международной научно-практической конф.»Перспективы развития свиноводства».-Гродно,2003.-С.17-19
4. Глазко В.И., Серая-Рязанцева О.Ю. Некоторые проблемы генетики сельскохозяйственных животных // Вісник аграрної науки .-К.:Аграрна наука, 1994.-№10.-С.71-83
5. Коринный С.Н. Определение ошибок происхождения свиней // Тезисы докладов XIII международной научно-практической конф. «Пути интенсификации отрасли свиноводства в странах СНГ».-Жодино, 2006.-С.165-66
- 6.Почерняев К.Ф. Возможные причины неэффективности гибридизации в свиноводстве и пути их устранения //Тезисы докладов XIII международной научно-практической конф. «Пути интенсификации отрасли свиноводства в странах СНГ».-Жодино, 2006.-С.119-120
7. Войтенко С.Л., Метлицька О.І. Імуногенетична характеристика ліній свиней миргородської породи // Міжвідомчий тематичний збірник «Розведення і генетика тварин».-К.:Аграрна наука,2005.-вип.38.-256-258
8. Балацкий В.Н., Метлицкая Е.И. ДНК-диагностика стресс-синдрома свиней и ассоциация RYR1 –генотипов с жизнеспособностью поросят раннего возраста // Цитология и генетика.-2001.-№3.-С. 43-49
- 9.Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А. Молекулярно-генетические маркеры в животноводстве // Биотехнология сельскохозяйственных животных .-СПб, 2002.-С.52-56

10. Метлицька О.І. Ефективність генетичної паспортизації порід свиней із застосуванням ISSR-PCR маркерів // Вісник Полтавської державної аграрної академії .-2005.-№3.-С.39-41
11. *Войтенко С., Петренко С., Пісковий М.* Локальні породи свиней// Тваринництво України.-2007.-№2.-С. 70-72.
12. *Йовенко В.М.* Метод програмованого добору батьківських пар овець на основі генетико-молекулярних маркерів //Науково-технічні розробки в галузі тваринництва.-Нова Каховка:»ПІЕЛ», 2006.-С.144-145