

According to research, a significant effect of temperature and humidity on the fertility of sows of the factory type "Bagachansky", and high values of plasticity of families on this index indicate about an insufficient adaptation of these animals and indicate the feasibility of developing technological measures to mitigate environmental factors.

**Key words:** sow, breed, family, line, factory type, reproductive qualities, selection, adaptation, ecological plasticity, index.

УДК 636.47.082:575.113.2(477)

doi 10.37143/0371-4365-2021-75-76-04

## ГЕНОТИПУВАННЯ СВИНЕЙ УКРАЇНСЬКИХ ПОРІД ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ З ТЕТРАНУКЛЕОТИДНИМ МОТИВОМ

С. М. Корінний,<sup>1</sup> А. О. Онищенко<sup>2</sup>, Л. Г. Перетяцько<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Полтавський державний аграрний університет  
вул. Сковороди 1/3, м. Полтава, Україна, 36003

<sup>2</sup>Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН України  
вул. Шведська Могила 1, м. Полтава, 36013, Україна

Метою досліджень було генотипування тварин українських порід свиней за мікросателітними локусами геному для подальшого створення та впровадження методології визначення генних комплексів адаптивності свиней. Методи досліджень: зоотехнічні – аналіз генеалогії та показників продуктивності тварин різних порід; біоінформаційний – робота з базами даних первинних послідовностей геномів для дизайну олігонуклеотидних праймерів; молекулярно-генетичні – екстракція нуклеїнової кислоти, визначення чистоти та концентрації препаратів ДНК, ампліфікація мікросателітних локусів в ПЛР з подальшим електрофоретичним розділенням продуктів ампліфікації в денатуруючому гелі; статистичний – визначення популяційно-генетичних параметрів на основі даних типування за мікросателітними локусами, зв'язок мікросателітних локусів з показниками продуктивності, пошук адаптивних комплексів. Проведено генотипування тварин української м'ясної породи ДП «ДГ Еліта МПП ім. В. М. Ремесла НААН» Київської області за 6 мікросателітними локусами з тетрануклеотидними повторами, панеллю праймерів власного дизайну. Виявлено, що середня кількість алелів на локус становила 5,2 алеля. Рівень фактичної гетерозиготності дорівнював 0,830 тоді як очікуваної гетерозиготності він був 0,780. Проте, дана різниця не є достовірною. Проведено ДНК- типування тварин

Корінний Сергій Миколайович, к. с.-г. наук, с. н. с., доцент кафедри біотехнології та хімії,  
e-mail: korinny sergey@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-1649-3079>

Онищенко Андрій Олексійович, к. с.-г. наук, с. н. с., ст. наук. співр. лаб. селекції,  
e-mail: geroi76@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-0684-1201>

Перетяцько Лідія Григорівна, к. с.-г. наук, с. н. с., зав. лаб. селекції,  
e-mail: lidiplper@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-0919-8482>

за 6 локусами мікросателітної ДНК 17 голів Полтавської м'ясної породи ДП «ЕБ «Надія». В результаті генотипування встановлено: середня кількість алелів на локус була 3,8. Рівні гетерозиготності фактичної та очікуваної склали 0,680 та 0,730 відповідно. За локусами мікросателітної ДНК ми виявили у тварин Миргородської породи: для локусу FH3628 – 5 алелів 200–228 нуклеотидів, FH1865-5 алелей (розмір від 109 до 129 нуклеотидів), FH4219 – 2 алелі 80 і 92 нуклеотиди, FH1885 – 4 алеля від 205 до 213 нуклеотидів, FH3764 – 2 алеля 138 та 146 нуклеотидів, а для FH4231 – 2 алеля 116 і 120 нуклеотидів. Високий рівень гетерозиготності, а також середня кількість алелів на локус дозволяє вести пошук алелів та генотипів, що пов'язані з адаптивністю тварин в породах свиней української селекції.

**Ключові слова:** свині, мікросателітні локуси, геном, середня кількість алелів, рівень гетерозиготності популяція, мінливість.

Оскільки всі процеси в організмах відбуваються під генетичним контролем, то адаптивність можливо вивчати за рахунок генетичної складової. Тут нам стають у пригоді молекулярно-генетичні маркери. На сьогоднішній день розвиток методів молекулярної генетики призвів до появи нового класу генетичних маркерів – ДНК-маркерів, заснованих на поліморфізмі первинної структури ДНК. Можливість їх ідентифікації не залежить від умов навколишнього середовища, вони не є тканиноспецифічними і, головне, з використанням ДНК-маркерів, гени, що цікавлять селекціонера можуть бути ідентифіковані на будь-якому етапі роботи без проведення фенотипової оцінки. Крім ідентифікації цільових генів, ДНК-маркери можуть бути ефективно використані для визначення рівня генетичної схожості досліджуваних об'єктів за рахунок аналізу їх геномного поліморфізму.

ДНК-маркери генетичних систем різного класу повинні мати певні властивості і відповідати наступним вимогам: високий рівень поліморфізму, кодомінантний характер успадкування, оптимальний рівень частоти наявності в геномі для вирішення конкретних завдань, рівномірний розподіл в геномі за хромосомами, селективна нейтральність, спрощена оцінка параметрів маркера, можливість автоматизації оцінки параметрів маркера, висока відтворюваність оцінки параметрів маркера, можливість легкого обміну даними між лабораторіями [1].

Численними дослідженнями було показано, що одна з найбільш інформативних систем молекулярного маркування сільськогосподарських культур – так звані мікросателітні послідовності ДНК (SSR *Short Sequence Repeat*). У геномі еукаріот вбудовані тандемні повтори з простих послідовностей можуть складатися з 6–2 і навіть одного нуклеотиду. Пізніше ці регіони були названі «мікросателітами» [2].

Мікросателіти мають високу швидкість мутацій від  $10^2$  до  $10^5$  залежно від типу мікросателіта [3, 4], що призводить до накопичення популяційно-специфічних мутацій і дозволяє використовувати інформацію про мінливість мікросателітних локусів для аналізу структури популяцій [5]. Тандемні повтори в цілому і мікросателітні послідовності ДНК зокрема наділяються рядом дослідників важливою роллю у функціонуванні геному на біохімічному, молекулярному і субклітинному рівнях [6].

Є дані щодо 850 тетрануклеотидних повторів, що розташовані в аутосомах в середньому на відстані 7,4 сМ і з середньою гетерозиготністю більше 70 %. Взагалі, прості повтори розподіляються наступним чином: одно- 27,3 %, дво- 30,3 %, три- 15,1 %, чотиринуклеотидні повтори – 27,3 % [7].

На даний час цей підхід використовують для вирішення проблем популяційної генетики, створення карт зчеплення генів, "паспортизації" та відбору чистопородних тварин, типування сортів рослин, виявлення міжвидових та міжпородних (сорткових) відмінностей [8, 9].

Неабиякої популярності набирають дослідження еволюції і порівняльної геноміки самих мікросателітних локусів [10], нові підходи щодо інтерпретації даних одержаних за мікросателітного типування [11] та для аналізу адаптаційних змін в популяціях тварин [12–14].

Метою наших досліджень є генотипування тварин українських порід свиней за мікросателітними локусами геному для подальшого створення та впровадження методології визначення генних комплексів адаптивності свиней.

**Матеріали та методи досліджень.** Біологічний матеріал свиней було відібрано в провідних племінних господарствах з розведення порід, а також з банку ДНК Інституту свинарства і АПВ НААН.

- Миргородська порода – 100 голів племзаводу ДП «ДГ «ім. Декабристів», с. Великий Байрак, Миргородського р-ну, Полтавської обл.;
- Українська м'ясна порода – 20 голів племзавод ДП «ДГ Еліта МПП ім. В. М. Ремесла НААН Київської області»;
- Полтавська м'ясна порода – 20 голів племзавод ДП «ЕБ «Надія».

Відбір проб крові свиней проводили в ранкові години до годівлі з вушної вени в поліетиленові пробірки з антикоагулянтном такого складу: 35 г натрію лимоннокислого, 20 г глюкози, 0,03 г риванолу, 0,15 г левоміцетину, доводили об'єм до 1000 мл дистильованою водою. Співвідношення кров/антикоагулянт – 3:7. Загальний об'єм стабілізованої крові становив 9-10 мл.

Відбір щетини тварин проводили шляхом висмикування щетин з волосяними фолікулами за допомогою пінцета чи хірургічного зажиму. Надалі щетину поміщали в паперові конверти. Після надходження до лабораторії конверти із щетиною поміщали в сушильну шафу на 2 год. За температури 105°C для дезакаризації.

Виділення ДНК проводитиметься сольовим методом [15], для довготривалого зберігання та поповнення банку ДНК та за допомогою реагенту "Chelex-100" [16], для поточних досліджень.

#### Полімеразна ланцюгова реакція

Реакцію здійснювали за методикою, оптимізованою в лабораторії генетики Інституту свинарства і АПВ НААН.

Реакцію проводили в 0,6-мл мікроцентрифужних пробірках на термоциклері «Терцик-2» виробництва «ДНК-технологии» (Росія) в 25 мкл ПЛР-суміші: 2,5 мкл 10 кратного буфера (670 mM Tris - HCl, pH 8,8 за температури 25°C, 20 mM БСА, 166 mM амонію сірчаноокислого (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100 mM 2-β-меркаптоетанол), 2,5 мкл 2,5 mM dNTP, по 0,5 мкл (0,1 опт. один.) кожного з праймерів, 1,5 мкл 50 mM MgCl<sub>2</sub>, зразок ДНК свині – до кінцевої концентрації в суміші. 1 мкг/мл, 2–3 од. Тақ ДНК-полімерази (*Thermus aquaticus*) (Termal Scientific Вільнюс, Литва).

На суміш нашаровували 25 мкл мінерального масла. Проводили 35 циклів ампліфікації за слідуєчими параметрами: 1 хвилина 94 °C, 1 хвилина – 60 °C, 1 хвилина – 72 °C. Останній цикл ампліфікації: – 5 хвилин – 72 °C.

#### Електрофоретичне розділення фрагментів.

Електрофоретичне розділення фрагментів ДНК проводили в 10 %-вому денатуруючому поліакріламідному гелі наступного складу: (31,5 г сечовини, 11,25 мл 40 % -вого розчину акриламідну : N N' метиленбісакріламідну в співвідношенні 19:1, 3,75 мл 10x TBE, 31,5 мл дистильованої води) у 0,5 кратному тріс-боратному

електрофорезному буфері (ТВЕ: 0,0879 М Тріс, 0,089 М борна кислота (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), 0,002 М ЕДТА рН 8,0), згідно методичних рекомендацій [17]. Для нанесення зразків на гель використовували буфер 2×STR такого складу: 0,05 % -вий бромфеноловий синій, 0,05 % -вий ксилолціанол, 95 % -вий формамід, 10 мМ розчин їдкою натру (NaOH). Попередньо проби з буфером для нанесення в співвідношенні 1:1 витримували 2 хв. за температури 95 °С, після чого їх занурювали в крижану баню. Електрофорез проводили 1,5–3 години при потужності електричного поля 40 Вт за температури гелю 50°С.

#### Візуалізація електрофореграм.

Здійснювали шляхом фарбування гелів в розчині бромистого етидію (0,5 мкг/мл) з експозицією 10 хв. з послідуною їх багаторазовою відмивкою у дистильованій воді. Візуалізацію фрагментів ДНК проводили в УФ світлі на транслюмінаторі при довжині хвилі 310 нм. та фотографували на цифрову фотокамеру Canon Power Shoot IS – S3.

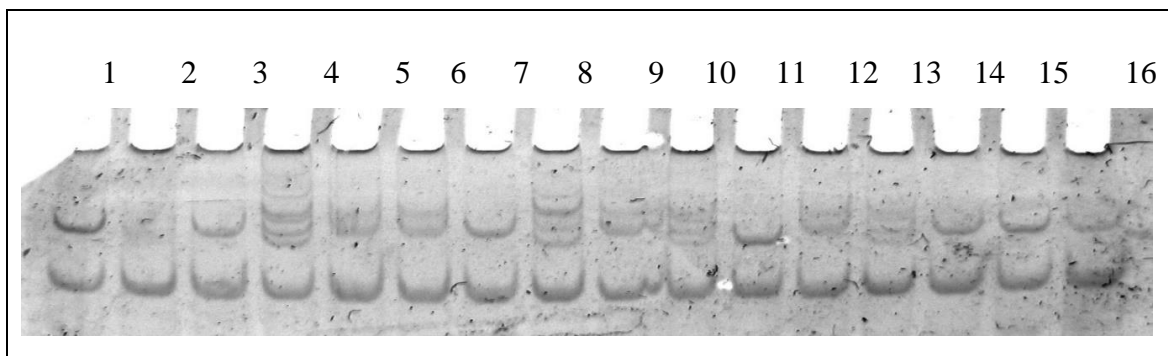
#### Генотипування тварин.

Генотипування тварин здійснювали за результатами електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації, які візуалізували одним з наведених вище методів. Після одержання цифрового зображення визначення розмірів ампліфікованих фрагментів здійснювали з використанням комп'ютерної програми «Gel-Pro Analyzer ver. 3.1.» (Media Cybernetics, Inc. USA).

Рівні гетерозиготності – фактичний та очікуваний, а також середню кількість алелів на локус розраховували за допомогою програми GenAlEx 6.0 [18].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Генотипування свиней за локусами мікросателітної ДНК проводили шляхом ампліфікації ДНК в мультиплексній ПЛР мікросателітних локусів з тетрануклеотидним мотивом.

З аліквотою продукту ПЛР (5 мкл) проводили електрофорез спочатку в нативних, для оцінювання потужності ампліфікації рис 1. Після цього проводили електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації в 8 % поліакриламідному гелі в денатуруючі умови (по одинці та продуктів мультиплексної ампліфікації). В якості маркера молекулярного розміру використовували алельні «драбини» відповідного молекулярного розміру локусів людини. Візуалізацію продуктів ампліфікації та рестрикції здійснювали шляхом фарбування бромистим етидієм і фотографуванням на транс-ілюмінаторі в ультрафіолетовому світлі (рис. 2).

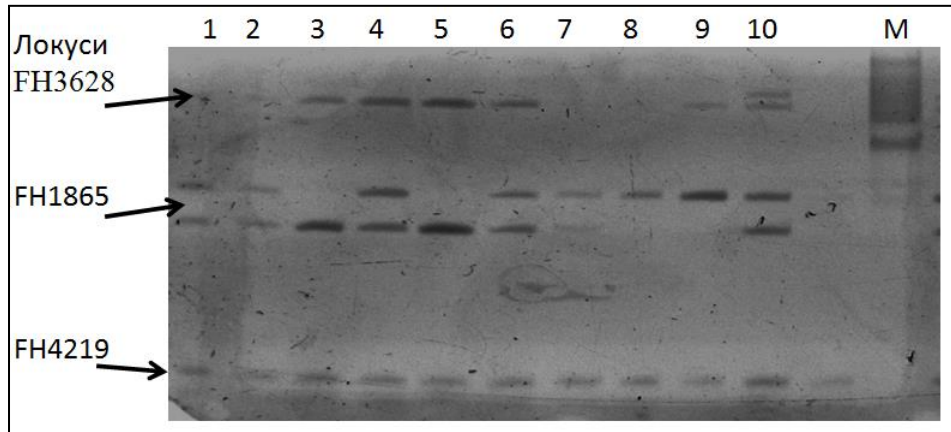


**Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації тварин миргородської породи в 6 % нативному поліакриламідному гелі, де 1–16 досліджувані зразки різних тварин.**

Нами було створено панель локусів мікросателітів з тетрануклеотидним мотивом, які можна використовувати як по одинці, так і в мультиплексній ПЛР.

При перевірці даних систем мікросателітних локусів виявилось, що всі системи працюють за однакової температури відпалу – 60 °С.

Не було виявлено в процесі електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації в денатуруючому поліакриламідному гелі сторонніх (не специфічних) фрагментів. До того ж було проаналізовано концентрацію компонентів реакційної суміші. Результати генотипування представлено на рисунку 3.



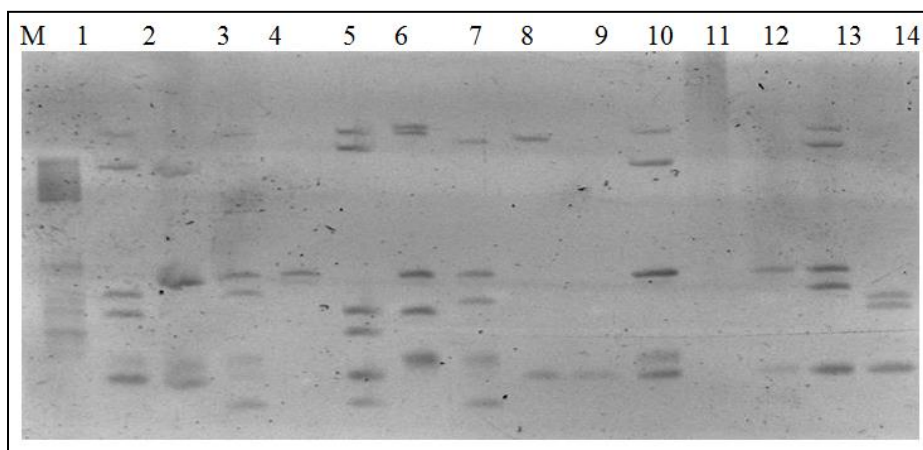
**Рис. 2. Електрофореграма продуктів мультиплексної ПЛР тварин м'ясопороди в 10 % денатуруючому поліакриламідному гелі.**

Примітки: де – 1–10 тварини;

М – маркер молекулярного розміру.

Щодо популяційно-генетичних параметрів то для української м'ясної породи свиней показники виявились наступними: середня кількість алелів на локус становила 5,2 алеля. Рівень фактичної гетерозиготності дорівнював 0,830 тоді як очікуваної гетерозиготності він був 0,780. Проте, дана різниця не є достовірною.

Проведено ДНК-типсування тварин за 6 локусами мікросателітної ДНК 17 голів полтавської м'ясної породи ДП «ЕБ «Надія». В результаті генотипування встановлено: середня кількість алелів на локус була 3,8. Рівні гетерозиготності фактичної та очікуваної склали 0,680 та 0,730 відповідно.



**Рис. 3. Результат генотипування за мікросателітними локусами тварин української м'ясної породи.**

Примітки: де – 1–14 дослідні зразки;

М – маркер молекулярного розміру.

За локусами мікросателітної ДНК ми виявили у тварин Миргородської породи: для локусу FH3628 – 5 алелів 200-228 нуклеотидів, FH1865-5 алелей (розмір від 109 до 129 нуклеотидів), FH4219 – 2 алелі 80 і 92 нуклеотиди, FH1885 – 4 алеля від 205 до 213 нуклеотидів, FH3764 – 2 алеля 138 та 146 нуклеотидів, а для FH4231 – 2 алеля 116 і 120 нуклеотидів. Результати генотипування представлено на рисунку 4.

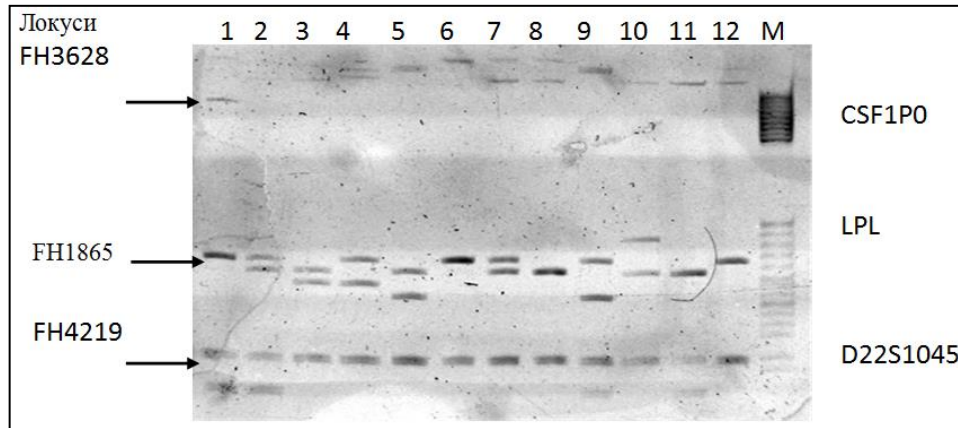


Рис. 4. Результати генотипування миргородської породи свиней

Рівень фактичної гетерозиготності дорівнював 0,860 тоді як очікуваної гетерозиготності він був 0,810.

Таким чином у трьох породах української селекції за 6 локусами мікросателітної ДНК з тетра nukлеотидним повтором рівень фактичної гетерозиготності знаходився в межах 0,680 у тварин полтавської м'ясної породи до 0,860 у тварин миргородської породи. Рівень очікуваної гетерозиготності – 0,730 у тварин полтавської м'ясної породи до 0,810 миргородської породи.

**Висновки;** 1. Для української м'ясної породи середня кількість алелів на локус становила 5,2 алеля. Рівень фактичної гетерозиготності дорівнював 0,830, тоді як очікуваної гетерозиготності був 0,780. Проте, дана різниця не є достовірною.

2. В результаті генотипування полтавської м'ясної породи свиней за 6 локусами мікросателітів встановлено: середня кількість алелів на локус була 3,8. Рівні гетерозиготності фактичної та очікуваної склали 0,680 та 0,730 відповідно.

3. Рівень фактичної гетерозиготності у тварин миргородської породи дорівнював 0,860 тоді як очікуваної гетерозиготності він був 0,810.

4. У трьох породах української селекції за 6 локусами мікросателітної ДНК з тетра nukлеотидним повтором рівень фактичної гетерозиготності знаходився в межах 0,680 у тварин полтавської м'ясної породи до 0,860 у тварин миргородської породи. Рівень очікуваної гетерозиготності – 0,730 у тварин полтавської м'ясної породи до 0,810 миргородської породи.

**Перспективи подальших досліджень.** Високий рівень гетерозиготності, а також середня кількість алелів на локус дозволяє вести пошук алелів та генотипів, що пов'язані з адаптивністю тварин в породах свиней української селекції.

## БІБЛІОГРАФІЯ

1. Конарев А. В. Использование молекулярных маркеров в работе с генетическими ресурсами растений. *Сельскохозяйственная биология*. 1998. № 5. С. 3–25.

2. Litt M., Luty J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *AJHG. The Amimal Journal of Human Genetics*. 1989. Vol. 44. P. 388–396. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1715430/> (date of access: 07.04.2021).
3. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*. 2004. Vol. 5. № 6. P. 435–445. doi: <https://doi.org/10.1038/nrg1348>.
4. Rosenberg N. A., Pritchard J. K., Weber J. L., Cann H. M., Kidd K. K., Zhivotovsky L. A., Feldman M. W. Genetic structure of human populations. *Science*. 2002. Vol. 298. Is. 5602. P. 2381–2385. doi: 10.1126/science.1078311
5. Зимницкий А. Н., Башкатов С. А., Уразбаев В. Н. Тандемные повторы ДНК и концепция матричного синтеза протеогликанов. Москва: Лабиринт, 2005. 103 с.
6. Wintero A. K., Fredholm M., Thomsen P. D. Variable (dG-dT)<sub>n</sub>. (dC-dA)<sub>n</sub> sequences in the porcine genome. *Genomics*. 1992. Vol.12. Is. 2. P. 281–288. doi: 10.1016/0888-7543(92)90375-3
7. Laval G. SanCristobal M., Chevalet C. Measuring genetic distances between breeds: use of some distances in various short term evolution models. *Genetics Selection Evolution*. 2002. Vol. 34. P. 481–507. doi: 10.1186/1297-9686-34-4-481
8. Cuadrado A., Schwarzacher T. The chromosomal organization of simple sequence repeats in wheat and rye genomes. *Chromosoma*. 1998. Vol. 107. Is. 8. P. 587–594. doi: 10.1007/s004120050345
9. Guy-Franck R., Kerrest A., Dujon B. Comparative Genomics and Molecular Dynamics of DNA Repeats in Eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2008. Vol. 72. № 4. P. 686–727. doi: 10.1128/MMBR.00011-08
10. Putman A. I., Carbone I. Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. *Ecology and Evolution*. 2014. Vol. 4. № 22. P. 4399–4428. doi: 10.1002/ece3.1305
11. Eggert L. S., Beadell J. S., McClung A., McIntosh C. E., Fleischer R. C. Evolution of Microsatellite Loci in the Adaptive Radiation of Hawaiian Honeycreepers. *Journal of Heredity*. 2009. Vol. 100. Is. 2. P. 137–147. doi: <https://doi.org/10.1093/jhered/esn111>
12. Gama L. T, Martínez A. M, Carolino I., Landi V., Delgado J. V., Vicente A. A., Vega-Pla J. L., Cortés O., Sousa C. O., BIOPIG Consortium. Genetic structure, relationships and admixture with wild relatives in native pig breeds from Iberia and its islands. *Genetics Selection Evolution*. 2013. Vol. 45. P. 18–32. doi: 10.1186/1297-9686-45-18
13. Beyea M., Neumanna P., Schmitzová J., Klaudivy J., Albertb S., Simúthc J., Felderc M., Moritz R.F.A. A simple, non-radioactive DNA fingerprinting method for identifying patriline in honeybee colonies. *Apidologie*. 1998. Vol. 29. № 3. P. 255-263. doi: 10.1051/apido:19980305
14. Moritz R. F. A., Kryger P., Koeniger G., Koeniger N., Estoup A., Tingek S. High degree of polyandry in *Apis dorsata* queens detected by microsatellite variability. *Behavioral Ecology Sociobiology*. 1995. Vol. 37. P. 35. doi: 10.1007/BF00174141
15. Соколов Б. П., Джемелинский В. В. Выделение высокомолекулярной эукариотической ДНК с использованием ацетата калия. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 1989. № 6. С. 45–46.
16. 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*. 2013. Vol. 54. Is. 3. P. 134–139. doi: 10.2144/000114018

17. Technical Manual GenePrint™ STR Systems: Instructions for use of Product. Promega Corporation. 1996. 51 p.
18. Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 2006. Vol. 6. Is. 6. P. 288–295. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

## REFERENCES

1. Konarev, A. V. (1998). Ispolzovanie molekulyarnykh markerov v rabote s geneticheskimi resursami rasteniy [Use of molecular markers in work with plant genetic resources]. *Selskohozyaystvennaya biologiya*, 5, P. 3-25 [in Russian].
2. Litt, M., & Luty, J. A. (1989). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 44, 388-396. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1715430/>
3. Ellegren, H. (2004). Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5(6), 435–445. doi: <https://doi.org/10.1038/nrg1348>
4. Rosenberg, N. A., Pritchard, J. K., Weber, J. L., Cann, H. M., Kidd, K. K., Zhivotovsky, L. A., & Feldman, M. W. (2002). Genetic structure of human populations. *Science*, 20, 2381–2385. doi: 10.1126/science.1078311
5. Zimnitskiy, A. N., Bashkatov, S. A., & Urazbaev, V. N. (2005). *Tandemnyye povtory DNK i kontseptsiya matrichnogo sinteza proteoglikanov* [Tandem DNA repeats and the concept of matrix synthesis of proteoglycans]. Moscow: Labirint [in Russian].
6. Wintero, A. K., Fredholm, M., & Thomsen, P. D. (1992). Variable (dG-dT)<sub>n</sub>-(dC-dA)<sub>n</sub> sequences in the porcine genome. *Genomics*, 12(2), 281–288. doi: 10.1016/0888-7543(92)90375-3
7. Laval, G. SanCristobal, M., & Chevalet, C. (2002). Measuring genetic distances between breeds: use of some distances in various short term evolution models. *Genetics Selection Evolution*, 34, 481–507. doi: 10.1186/1297-9686-34-4-481
8. Cuadrado, A., & Schwarzacher, T. (1998). The chromosomal organization of simple sequence repeats in wheat and rye genomes. *Chromosoma*, 107(8), 587–594. doi: 10.1007/s004120050345
9. Guy-Franck, R., Kerrest, A. & Dujon, B. (2008). Comparative Genomics and Molecular Dynamics of DNA Repeats in Eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(4), 686–727. doi: 10.1128/MMBR.00011-08
10. Putman A. I., & Carbone, I. (2014). Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. *Ecology and Evolution*, 4(22), 4399–4428. doi: 10.1002/ece3.1305
11. Eggert, L. S., Beadell, J. S., McClung, A., McIntosh, C. E., & Fleischer, R. C. (2009). Evolution of Microsatellite Loci in the Adaptive Radiation of Hawaiian Honeycreepers. *Journal of Heredity*, 100(2), 137–147. doi: <https://doi.org/10.1093/jhered/esn111>
12. Gama, L. T., Martínez, A. M., Carolino, I., Landi, V., Delgado, J. V., Vicente, A. A., Vega-Pla, J. L., Cortés, O., Sousa, C. O. & BIOPIG Consortium (2013). Genetic structure, relationships and admixture with wild relatives in native pig breeds from Iberia and its islands. *Genetics Selection Evolution*, 45, 18–32. doi: 10.1186/1297-9686-45-18
13. Beyea, M., Neumanna, P., Schmitzová, J., Kludinyb, J., Albertb, S., Simúthc, J., Felderc, M., & Moritz, R. F. A. (1998). A simple, non-radioactive DNA

fingerprinting method for identifying patriline in honeybee colonies. *Apidologie*, 29(3), 255–263. doi: 10.1051/apido:19980305

14. Moritz, R. F. A., Kryger, P., Koeniger, G., Koeniger, N., Estoup, A., & Tingek, S. (1995). High degree of polyandry in *Apis dorsata* queens detected by microsatellite variability. *Behavioral Ecology Sociobiology*, 37, 35. doi:10.1007/BF00174141

15. Sokolov, B. P., & Dzhemelinskiy, V. V. (1989). Vyidelenie vyisokomolekulyarnoy eukarioticheskoy DNK s ispolzovaniem atsetata kaliya [Isolation of high molecular weight eukaryotic DNA using potassium acetate]. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*, 6, 45–46 [in Russian].

16. Walsh, P. S., Metzger, D. A., & Higuchi, R. (2013). Chelex-100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material. *BioTechniques*, 54(3), 134–139. doi: 10.2144/000114018

17. Technical Manual GenePrint™ STR Systems: Instructions for use of Product (1996). Promega Corporation.

18. Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288–295. doi:10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

## GENOTYPING PIGS OF UKRAINIAN BREEDS BY MICROSATELLITE LOCI WITH A TETRANUCLEOTIDE MOTIF

S. M. Korinnyi<sup>1</sup>, A. O. Onyshchenko<sup>2</sup>, L. G. Peretiatko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Poltava State Agrarian University*

*Skovoroda Str., 1/3, Poltava, Ukraine, 36003*

<sup>2</sup>*Institute of Pig Breeding and Agroindustrial Production NAAS*

*Shvedska Mohyla Str., 1, Poltava, Ukraine, 36013*

*The aim of the research was genotyping animals of Ukrainian pig breeds according to microsatellite loci of the genome for further creation and implementation of the methodology for determining gene complexes of pig adaptability. Research methods: zootechnical – the analysis of genealogy and the productivity indexes of animals of different breeds; bioinformation - work with databases of the primary genome sequences for the design of oligonucleotide primers; molecular genetic - nucleic acid extraction, the determination of purity and concentration of DNA preparations, the amplification of microsatellite loci in PCR with subsequent electrophoretic separation of the amplification products in denaturing gel; statistical – the determination of population-genetic parameters on the basis of typing data on microsatellite loci, the relationship of microsatellite loci with performance indexes, the search for adaptive complexes. It was carried out genotyping animals of the Ukrainian meat breed in SE “RF Elita MIW named after V. M. Remeslo NAAS” of Kyiv region for 6 microsatellite loci with tetranucleotide repeats, a panel of primers of its own design. It was found the fact that the average number of alleles per locus was 5.2 alleles. The level of actual heterozygosity was 0.830, while the expected heterozygosity was 0.780. However, this difference is not significant. DNA typing animals for 6 loci of microsatellite DNA of 17 heads of Poltava meat breed of SE “EB Nadiia” was carried out. As a result of genotyping, the average number of alleles per locus was 3.8. The actual and expected heterozygosity levels were 0.680 and 0.730, respectively. By loci of microsatellite DNA, we found in animals of Myrhorod breed: for locus FH3628 – 5 alleles of 200-228 nucleotides, FH1865 – 5 alleles (size from 109 to 129 nucleotides), FH4219 – 2 alleles of 80 and 92 nucleotides, FH1885 – 4 alleles*

from 205 up to 213 nucleotides, FH3764 – 2 alleles 138 and 146 nucleotides, and for FH4231 – 2 alleles 116 and 120 nucleotides. The level of actual heterozygosity was 0.860, while the expected heterozygosity was 0.810. Thus, in three breeds of Ukrainian selection for 6 loci of microsatellite DNA with tetranucleotide repeat, the level of actual heterozygosity was in the range of 0.680 in animals of Poltava meat breed to 0.860 in animals of Myrhorod breed. The level of expected heterozygosity is 0.730 in animals of Poltava meat breed to 0.810 in Myrhorod breed. The high level of heterozygosity, as well as the average number of alleles per locus allows to search for alleles and genotypes associated with the adaptability of animals in breeds of pigs of Ukrainian selection.

**Key words:** pigs, microsatellite loci, genome, average number of alleles, level of heterozygosity, population, variability.

УДК 636.4.082.26:575.113

doi 10.37143/0371-4365-2021-75-76-05

## ВСТАНОВЛЕННЯ ПРАМАТЕРИНСЬКИХ ПОРІД У ФІНАЛЬНИХ ГІБРИДАХ СВИНЕЙ З ВИКОРИСТАННЯМ ПОЛІМОРФІЗМУ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО ГЕНОМУ

Є. О. Будаква,<sup>1</sup> К. Ф. Почерняєв<sup>1</sup>, С. М. Корінний<sup>1</sup>, М. Г. Повод<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН  
вул. Шведська Могила 1, м. Полтава, Україна, 36013

<sup>2</sup>Сумський національний аграрний університет  
вул. Герасима Кондратьєва 160, м. Суми, Україна, 40000

Метою даної роботи було визначення походження свиней фінального гібрида (велика біла × ландрас) × Махгро за допомогою мітохондріальних ДНК-маркерів. У якості генетичного матеріалу використовували щетину з вушної раковини свиней (велика біла × ландрас) × Махгро. Виділення ДНК проводили за методикою Корінного С. М. та ін. 2005 р., з використанням іонообмінної смоли Chelex - 100. Для аналізу мітохондріального геному був використаний метод поліморфізму довжин рестриктних фрагментів ампліфікованих у ПЛР (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism – PCR-RFLP). Аналізу підлягають ділянки D-петлі мітохондріального геному свині розміром 428 пар нуклеотид (з сайтами розпізнавання *Tas 1* у позиціях 15558, 15580, 15616, 15714, 15758). Порівняння успадкованого по материнській лінії рестриктних фрагментів у породі дозволило отримати достовірну інформацію походження експериментально досліджуваної вибірки свиней фінального гібрида (n=15) від ТОВ НВП “Глобинський свинокомплекс”, м. Глобино, Полтавська обл., Україна. Лабораторне дослідження проводили на базі Інституту свинарства і АПВ НААН

Будаква Єлизавета Олександрівна, мол. наук. співр. лаб. генетики,

e-mail: budakvavelyzaveta@gmail.com,

<https://orcid.org/0000-0001-5941-1953>

Почерняєв Костянтин Федорович, д. с.-г. наук, зав. відділу фізіології та здоров'я тварин,

e-mail: k.f.pochernyaev@gmail.com,

<https://orcid.org/0000-0001-9973-6429>

Корінний Сергій Миколайович, к. с.-г. н., с. н. с, ст. наук. співр. лаб. генетики,

e-mail: korinny\_sergey@ukr.net,

<https://orcid.org/0000-0002-1649-3079>

Повод Микола Григорович, доктор с.-г. наук, професор кафедри технології кормів і годівлі тварин,

e-mail: nic.pov@ukr.net,

<https://orcid.org/0000-0001-9272-9672>