

DOI: 10.37925/0039-713X-2021-7-13-15

УДК 636.4

Генетическое разнообразие митохондриального генома свиней породы ландрас



Н.Ф. БАКОЕВ, научный сотрудник, Л.В. ГЕТМАНЦЕВА, доктор биолог. наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: ilonaluba@mail.ru, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

В работе представлены результаты исследования области D-петли у свиней породы ландрас (n=49). Амплификацию фрагмента D-петли мтДНК проводили по методу Сэнгера. Опыт показал, что современные свиньи породы ландрас в племенных хозяйствах РФ отличаются достаточным внутривидовым разнообразием и имеют различные гаплотипы, которые принадлежат как к европейской, так и к азиатской гаплогруппе.

Ключевые слова: свиньи, мтДНК, полиморфизм, ландрас, разнообразие.

Genetic diversity of the mitochondrial genome of Landrace pigs

N.F. BAKOEV, researcher, L.V. GETMANTSEVA, doctor of biological sciences, leading researcher, e-mail: ilonaluba@mail.ru, Federal Research Center for Animal Husbandry named after academician L.K. Ernst

The paper presents the results of a study of the D-loop area in Landrace pigs (n=49). Amplification of the mtDNA D-loop fragment was performed according to Sanger's method. The experiments showed that modern Landrace pigs in the breeding farms of the Russian Federation are distinguished by a sufficient intra-breed diversity and have different haplotypes that belong to both the European and Asian haplogroups.

Key words: pigs, mtDNA, polymorphism, Landrace, diversity.

■ Введение

Одним из эффективных подходов к оценке популяций является исследование полиморфизма митохондриальной ДНК. Мутации в митохондриальных геномах животных фиксируются со скоростью, которая примерно в 10 раз выше, чем в эквивалентных последовательностях ядерного генома (Frank et al., 2017). Варианты мтДНК передаются только от матери, так как отцовский митохондриальный геном элиминируется (Lee et al., 2017). На протяжении многих столетий проходило формирование митохондриального генома, приобретающего свои особенности, согласно которым образовались определенные гаплогруппы. Основными гаплогруппами мтДНК у свиней являются А, В, С, Д и Е. Считается, что гаплогруппы А, В, С мтДНК

имеют азиатское происхождение, а гаплогруппы Д и Е – европейское (Tsai et al., 2016).

У свиней мтДНК представляет собой кольцевую молекулу, состоящую в среднем из 16,5 тыс. п.н. В состав мтДНК входит 37 генов: 13 – для белков дыхательной цепи, 22 – для тРНК и два рРНК (16S рРНК и 12S рРНК), а также одна некодирующая область – D-петля (Lin et al., 1997). Большое количество исследований сельскохозяйственных животных, в том числе свиней, показало эффективность использования D-петли как маркера разнообразия при изучении митохондриального генома (Tsai et al., 2018; Колосова с соавт., 2019).

В связи с этим интерес представляет анализ вариации нуклеотидов области D-петли мтДНК у свиней породы ландрас, разводимых в племенных хозяйствах РФ.

■ Материалы и методы

Исследования проводили на свиньях породы ландрас (n=49). Свиную ДНК выделяли набором «К-Сорб-100» (ООО «Синтол») в соответствии с инструкцией производителя. Для амплификации фрагмента D-петли мтДНК использовали праймеры F5' – TGC AAA CCA AAA CGC CAA GT-3' и R: 3' – TTT TTG GGG TTT GGC AAG GC-5'. ПЦР-амплификацию производили с общим объемом реакции 25 мкл, содержащим 3 мкл ДНК (75 нг/мкл), 5 мкл 10 х ПЦР стандартного реакционного буфера, 1 мкл dNTP (1 ммоль/л), 0,5 мкл праймеров (20 мкмоль/л) и 0,5 Taq ДНК-полимеразы.

После первоначальной денатурации при 94°C в течение четырех минут проводили 33 цикла при 94°C в течение 20 секунд, при 64°C – в течение 45 секунд и при 72°C – в течение минуты. За конечным циклом

	1345677811112222345666	
	0496208301670134180123	
	60634918550791	
H_1	ATTGCCCACTTGCACCCTAGAA	20
H_2C..G...	6
H_3CC.A.....G..	1
H_4	.CAA-TTGC.C.TGT.TCG.GG	11
H_5C...G..	6
H_6	..A.....T.....	4
H_7	-.A.....T.....	1

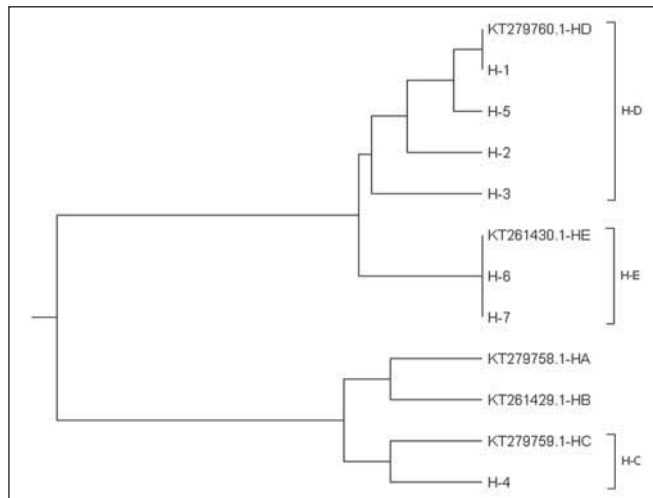


Рис. 1. Полиморфные сайты гаплотипов

Рис. 3. Филогенетическое дерево

следовало удлинение при 72°C в течение семи минут. Визуализацию продуктов ПЦР производили в 1,5%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Общая длина ПЦР-фрагмента составила 1046 п.н. Фрагменты ПЦР выделяли из геля с использованием набора Cleanup Mini для очистки ДНК из геля (ООО «Евроген»). Секвенирование проводили по методу Сэнгера. Выравнивание результатов секвенирования последовательности D-петли осуществляли с помощью программы BioEdit на основе референсной последовательности AM040653.1 из базы NCBI.

Для оценки генетического разнообразия определяли количество гаплотипов (H), гаплотипическое (HD) и нуклеотидное (π) разнообразие, среднее количество нуклеотидных замен на сайт (k) с использованием программы DnaSP 5.10 (Rozas et al., 1995). Расчеты и построение филогенетических деревьев выполняли методом максимального правдоподобия в программе MEGA 7.0. Принадлежность к гаплогруппам определяли в соответствии с последовательностями базы NCBI: A (GenBank: KT279758), B (GenBank: KT261429), C (GenBank: KT279759), D (GenBank: KT279760) и E (GenBank: KT261430).

■ Результаты исследований

На основании полученных секвенсов 49 фрагментов D-петли мтДНК длиной 824 п.н. у свиней породы ландрас было установлено 22 полиморфных сайта и семь гаплотипов. Полиморфные сайты гаплотипов представлены на **рисунке 1**.

В изучаемой выборке гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие составило 0,758 и 0,00868 соответственно, а среднее количество нуклеотидных замен на сайт – 7,138. Процентный состав нуклеотидов Т, С, А и G в последовательностях гаплотипов были практически идентичными во всех гаплотипах мтДНК (**рис. 2**).

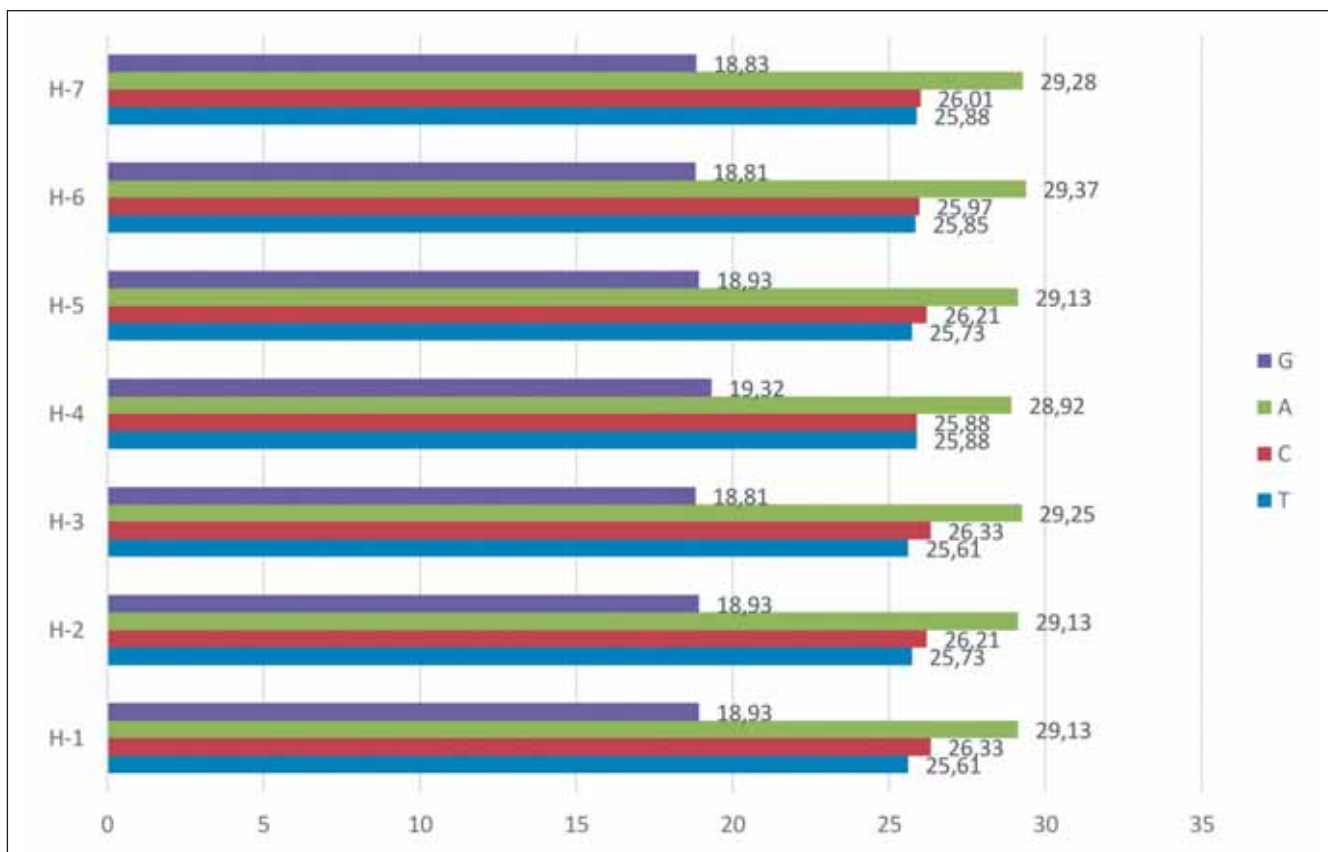


Рис. 2. Процентный состав нуклеотидов Т, С, А и G в последовательностях

Результаты построенного фило-генетического дерева показали, что установленные в нашей выборке гаплотипы принадлежат гаплогруппам D, E и C (рис. 3). Более 67,4% (n=33) изучаемого поголовья свиней породы ландрас относится к гаплогруппе D, что характерно для европейских пород свиней. Также европейская гаплогруппа E выявлена у 10,2% (n=5) исследуе-

мых животных. При этом 22,5% (n=11) особей имеют гаплотип C, принадлежащий азиатской гаплогруппе.

■ Заключение

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что современные свиньи породы ландрас в племенных хозяйствах РФ отличаются достаточным внутрипо-

родным разнообразием и имеют различные гаплотипы, которые принадлежат как к европейской, так и к азиатской гаплогруппе.

Работа проведена в рамках выполнения задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации ГЗ №0445-2021-0008

Литература

1. Frank K., Molnar J., Barta E. & Marincs F. The full mitochondrial genomes of Mangalica pig breeds and their possible origin J. Mitochondrial DNA Part B: Resources, 2017.

2. Kolosova M.A., Getmantseva L.V., Bakoev S.Yu., Kolosov A.Yu., Bakoev N.F., Shevtsova V.S., Lyashenko E.N., Kostyunina O.V. Associations of mtDNA haplotypes with productive traits in pigs. Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali, 2019.

3. Lee W.T., Sun X., Tsai T.S. et al. Mitochondrial DNA haplotypes induce differential patterns of DNA methylation that result in differential chromosomal gene expression patterns. Cell Death Discovery, 2017. 3:17062.

4. Lin C.S., Sun Y.L., Liu C.Y., Yang P.C., Chang L.C., Cheng I.C., Mao S.J. & Huang M.C. Complete nucleotide sequence of pig (Sus scrofa) mitochondrial genome and dating evolu-

tionary divergence within artiodactyla. J. Gene, 1999. 236(1):107–114.

5. Tsai T., Rajasekar S., St. John J.C. The relationship between mitochondrial DNA haplotype and the reproductive capacity of domestic pigs (Sus scrofa domestica). BMC Genet., 2016. 17:67.

6. Tsai T.S., Tyagi S., St. John J.C. The molecular characterisation of mitochondrial DNA deficient oocytes using a pig model. Hum. Reprod., 2018. 33(5):942–953.



ЭЛИТОКС®

**КОМПЛЕКСНЫЙ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЙ
ЭЛИМИНАТОР МИКОТОКСИНОВ**

**Первый Элиминатор микотоксинов
на основе очищенных
токсиннейтрализующих энзимов
и уникального адсорбирующего
комплекса.**

**Специфические ферменты необратимо
нейтрализуют неполярные микотоксины
(трихотецены, в том числе Т-2 токсин и ДОН,
зеараленон, фумонизины, охратоксин и др.).**

Новый адсорбирующий комплекс эффективно сорбирует широкий спектр микотоксинов. Биополимер, растительные экстракты и защищенный витамин С активно противодействуют угнетению иммунной системы микотоксинами и оказывают гепатопротективный эффект. Впервые специальный маркер позволяет определить с высокой точностью содержание Элитокса в корме.



Эксклюзивный дистрибьютор – Компания ООО «ПРОВЕТ»

Консультации и техническая поддержка.

Россия, г. Москва, ул. Артюхиной, д. 6Б, офис 202

Тел./факс: +7 (499) 179-03-55, 178-89-72, 178-19-03

E-mail: info@provet.ru www.provet.ru

