

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКИ ТВАРИН ІМЕНІ М.В.ЗУБЦЯ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

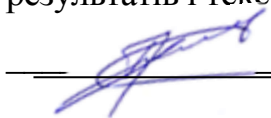
СИРОВНЄВ ГРИГОРІЙ ІГОРОВИЧ

УДК 575:636.4.082.4

**ГЕНИ *ECR F18/FUT1* І *ECR F4/MUC4* ТА ЇХ ВПЛИВ
НА ГОСПОДАРСЬКИ КОРИСНІ ОЗНАКИ СВИНЕЙ У
ЗАКРИТІЙ ПОПУЛЯЦІЇ**

03.00.15 – генетика
(Сільськогосподарські науки)

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Сировнєв Г.І.

Науковий керівник: **Сметанін Володимир Тимофійович**
доктор сільськогосподарських наук, професор

Дніпро-2021

АНОТАЦІЯ

Сирови́сєв Г.І. Гени *ECR F18/FUT1* і *ECR F4/MUC4* та їх вплив на господарськи корисні ознаки свиней у закритій популяції. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика. – Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро. – Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН, с. Чубинське, Київської обл., 2021.

Тварини селекції Дніпропетровського сільськогосподарського інституту (ДСГІ) створені шляхом тривалої племінної роботи з використанням складного відтворювального схрещування порід свиней: великої білої, беркшир і ландрас – із застосуванням різних ступенів інбридингу і жорсткого бракування. Генеалогія популяції представлена трьома лініями й чотирма родинами (Сметанін 2005).

На основі генетико-популяційних досліджень Сметанінін В.Т. розроблено концепцію збереження генетичної мінливості в закритих локальних популяціях свиней. Подальший розвиток цих досліджень базується на введенні в аналіз генофонду нових маркерних систем, у тому числі генів господарськи корисних ознак (QTL).

Важливою проблемою на сучасному етапі розвитку свинарства залишається розробка систем заходів, метою яких є підвищення резистентності молодняку до кишкових інфекцій. Практика зоотехнії показує, що традиційних санітарно-ветеринарних заходів у боротьбі з інфекційними хворобами тварин недостатньо. Зокрема, з огляду на значні щорічні втрати поголів'я свиней від набрякової хвороби й післявідлучної діареї поросят, що викликано ентеропатогенними *E. coli*, першочерговим завданням промислового свинарства є попередження та подолання наслідків зазначених захворювань (Kolacz, 2009).

Одними з факторів, що впливають на процес інфікування тварин патогенними *E. coli*, є сіалоглікопротеїн слизу кишківника муцин 4 (*MUC4*) і фукозилуючий фермент α -фукозилтрансфераза-1 (*FUT1*), які беруть участь у

молекулярній взаємодії бактеріальних клітин, що мають фимбрії типу *F4* і *F18* з клітинами епітелію кишківника порослят. Поліморфізм послідовностей генів *MUC4* і *FUT1* свиней у свою чергу має вплив на характеристики продуктів їх експресії. Трансверсія $G \rightarrow C$ у позиції 1849 п.н. гена *MUC4* призводить до синтезу муцина 4, яка не адсорбує патогенні *E. coli*. Транзиція $G \rightarrow A$ у позиції 307 п.н. гена *FUT1* призводить до надсинтезу α -фукозилтрансферази-1, що конкурентно блокує рецептори для клітин бактерій на поверхні ентероцитів. Гени *MUC4* і *FUT1* є діалельними кодомінантними системами (Bosworth, 2005; Jorgensen, 2010).

Практичний інтерес представляє вивчення можливості застосування в процесі розведення свиней внутрішньопородного типу селекції ДСГІ української м'ясної породи поліморфізму генів *FUT1* і *MUC4*.

З іншого боку, варто провести оцінку розподілу бажаних генотипів у лініях і родинах досліджуваної популяції, розраховуючи на виявлення генеалогічних структур найбільш перспективних для селекції на стійкість до колібактеріозу.

Дослідження за темою дисертаційної роботи проводили впродовж 2010–2012 років на базі племінного репродуктора української м'ясної та великої білої порід свиней СТОВ «Луговське» фірми «Авіас2000» Солонянського району Дніпропетровської області.

Виділення ДНК здійснювали з проб плям крові й щетини тварин у присутності іонообмінної смоли Chelex-100 (Armas, 2006). Оцінку генотипів тварин за генами *FUT1* і *MUC4* проводили в лабораторії генетики Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН за допомогою методу ПЛР-ПДРФ (Wenzel, 2002). ПЛР проводили в стандартній реакційній суміші (Tapotili, Росія) в ампліфікаторі «Терцик2 («ДНК-Технология», Росія) за програмою: 94°C – 5 хв.; 35 циклів: 94 °C – 40 с; 60°C – 40 с; 72 °C – 60 с і 72 °C – 5 хв. для послідовностей *MUC4* і *FUT1*.

Для ідентифікації фрагмента гена *FUT1* розміром 161 п.н. використовували праймери: прямий 5'-ССААСГССТССГАТТССТГТ-3', зворотний 5'-GTGCATGGCAGGCTGGATGA-3' (Bosworth, 2005). Для ідентифікації фрагмента гена *MUC4* розміром 367 п.н. використовували праймери: прямий 5'-

GTGCCTTGGGTGAGAGGTTA-3', зворотний 5'-ACTCTGCCGTTCTCTTTCC-3' (Jorgensen, 2010).

Синтезовані в результаті ПЛР фрагменти гена *FUT1* розщеплювали ендонуклеазою *HinPI* і фрагменти гена *MUC4* - ендонуклеазою *XbaI*, в умовах, рекомендованих фірмою виробником (Fermentas, Литва).

Аналіз фрагментів рестрикції проводили за допомогою електрофорезу в 8% поліакриламідному гелі. Візуалізацію проводили шляхом фарбування поліакриламідного гелю етидієм бромідом із подальшим переглядом в ультрафіолетовому світлі на транслюмінаторі.

Дослідження мікрофлори посліду тварин виконували на кафедрі біотехнології та безпеки життєдіяльності за стандартною методикою, враховуючи рекомендації виробника поживного середовища Compact Dry EC (Nissui Pharmaceutical CO LTD, Японія).

Статистичну обробку результатів здійснювали шляхом аналізу розподілу частот алелів і генотипів у популяції і її структурних одиницях. Розрахунок генетичних дистанцій і генетичної ідентичності, а також побудову дендрограми філогенезу здійснювали за допомогою програми MEGA 5.0 (Tamura, 2011).

За допомогою ДНК-маркування виявлено генетичний поліморфізм генів *FUT1* і *MUC4* серед усіх досліджуваних груп тварин популяції. У цілому популяція свиней селекції ДСПГ характеризується зниженою частотою 0,29 бажаного алеля А за геном *FUT1*. В інбредній групі тварин частота бажаного алеля А на 0,09 нижча, ніж серед усіх тварин з визначеними генотипами. Для тварин аутбредних та інбредних груп розподіл частот алелів і генотипів за геном *FUT1* помітно різниться. Серед інбредних тварин переважає генотип GG (0,71), а серед аутбредних — AG (0,63). Частота алелів у інбредних тварин зміщена на $0,09 \div 0,14$ у бік небажаного G щодо інших досліджуваних груп. Слід зазначити, що розподіл генотипів за геном *FUT1* серед плідників і маток близький до показників по стаду в цілому.

На сьогодні серед країн Східної Європи найбільш повно досліджений поліморфізм гена *FUT1* у популяціях свиней великої білої породи. При цьому

концентрація бажаного алеля А знаходиться в діапазоні 0,13-0,24, що можна порівняти з даними, отриманими в нашому дослідженні (Коновал, 2008; Лобан, 2010; Костенко, 2013; Рудоман, 2014; Костюнина, 2016). Зазначена тенденція розподілу алельних варіантів характерна для комерційних порід: велика біла, ландрас, дюрок та пьєтрен,- що розводяться в Центральній і Західній Європі (Bosworth, 2005; Koacz, 2009). Однак у популяціях деяких локальних порід Польщі й Чехії кількість тварин з генотипом АА гена *FUT1* досягає 35,5% (злотницька плямиста) і 83,6% (пржештицька чорно-ряба) (Klukowska, 1999, Vrtkova, 2007). Згідно з проведеними в КНР дослідженнями (Yan, 2003; Bao, 2008) більшість місцевих порід свиней і популяція дикого азійського кабана не мають мутації $G \rightarrow A$ послідовності гена *FUT1* в позиції 307 п.н.

Встановлено, що досліджувана популяція характеризується високим рівнем поліморфізму за геном *MUC4*. Значна частина тварин стада представлена генотипом GG, асоційованим зі стійкістю молодняку до кишкових розладів, викликаних патогенними *E. coli*. Слід зазначити, що для інбредної лінії свиней української м'ясної породи, тип селекції ДСП, характерна висока концентрація алеля G — 0,72 і відсутність тварин з небажаним генотипом CC.

Відповідно до досліджень основних європейських порід свиней наявність поліморфізму гена *MUC4* встановлено, що генотип GG рідко зустрічається у тварин породи ландрас (0,2%) і йоркшир (20%). А найбільш часто у породи дюрок 88,3% і гемпшир 97,9% (Jorgensen, 2004; Matousek, 2011).

Українська низька концентрації генотипів АА за геном *FUT1* в популяції зумовлює відсутність варіантів генотипів ААGG і ААСС, а генотип ААGC зустрічається з частотою 0,06 (4 особи). Однак близько 1/3 усіх тварин є гетерозиготними за обома генами, що дозволяє проводити їх подальше схрещування для отримання гомозиготних нащадків за алелями А і G, відповідно до генів *FUT1* і *MUC4*. А схрещування батьківських форм із генотипами ААGC і ААGG дозволяє вже в першому поколінні отримати 1/2 нащадків із найбільш сприятливим поєднанням алелів (ААGG).

Для всієї популяції, а також у групах маток і плідників за геном *FUT1* характерне невелике перевищення значень спостереженої гетерозиготності в порівнянні з очікуваною. Однак для інбредної групи виявлена більш висока очікувана, ніж спостережена гетерозиготність ($H_E = 0,320$, $H_0 = 0,171$), а для аутбредних тварин спостерігаємо зворотну закономірність ($H_E = 0,448$, $H_0 = 0,643$).

За геном *MUC4* в усіх групах тварин популяції спостережна гетерозиготність вища за очікувану. Найменший індекс фіксації і відповідно селекційне навантаження спостерігається в розрізі групи плідників (-0,026), а найбільший (-0,385) — в інбредній лінії.

Серед усіх досліджуваних генеалогічних груп популяції характерний поліморфізм за генами *FUT1* і *MUC4*. У родинях Вольниці за обома генами, а Степової — за геном *MUC4* виявлені лише чутливі до колібактеріозу гетерозиготи. Родина Гордої за досліджуваними генами представлена трьома можливими генотипами. За геном *FUT1* у родинях Степової і Перемоги присутні лише чутливі гетерозиготи (генотип AG) і гомозиготи (генотип GG).

Генотип AA (ген *FUT1*), який зумовлює стійкість до патогенних *E. Coli*, виявлено лише у тварин родини Гордої з частотою 0,07. У родинях Гордої і Перемоги виявлені всі три генотипи гена *MUC4*. Частота генотипу GC гена *MUC4* склала відповідно 0,56 і 0,46 в родинях Гордої і Перемоги, а генотипу GG - 0,31 в обох зазначених родинях.

У плідників селекції ДСПІ за геном *FUT1* тільки в лінії Бистрого зустрічаються тварини з генотипом AA із частотою 0,10. Концентрація генотипу AG (чутливі гетерозиготи) серед ліній популяції становить: Борець — 0,53, Бистрий — 0,38, Орех — 0,75. Небажані генотипи GG чутливих гомозигот присутні з частотою 0,47, 0,52 і 0,25 серед ліній Борця, Бистрого і Ореха відповідно. За геном *MUC4* плідники з небажаним генотипом CC серед ліній Бистрого, Борця і Ореха спостерігаються з частотою 0,10, 0,15 і 0,25, а кількість гетерозигот GC відповідно становить 0,60, 0,53 і 0,75. Частота бажаного генотипу GG гена *MUC4* у лініях Борця і Бистрого — 0,32 і 0,30.

Вивчення впливу генотипу батьківських форм на темпи росту поросят у період від народження до 21 доби виявило залежність збереженості поросят від генотипів плідників та маток. За наявності алеля А (ген *FUT1*) у генотипі як матері, так і батька (AA х AG і AG х AG) збереженість поросят достовірно ($P < 0,05$) підвищувалася на 14,5 і 14,0%. При спарюванні маток і плідників з генотипами GG за геном *MUC4* було виявлено підвищення збереженості поросят до відлучення у порівнянні з тваринами, що мають генотипи GC на 7,0%, а тваринами з генотипом CC — на 23,1 %.

Ключові слова: українська м'ясна порода, популяція, свині, поліморфізм, ген, *FUT1*, *MUC4*, гетерозиготність, індекс фіксації Райта, родина, лінія.

ABSTRACT

Syrovnev G.I. Genes *ECR F18/FUT1* and *ECR F4/MUC4* and their effect on the quantitative traits of pigs in a closed population. – Manuscript copyright.

Thesis for a degree in Agricultural Sciences (phd), specialty 03.00.15 – Genetics. – Dnipro state agrarian and economic university, Dnipro. – M.V. Zubets Institute of Breeding and Animal Genetics, the National Academy of Agrarian Sciences in Ukraine, Chubynske vil., Kyiv region, 2021.

Animals of Dnepropetrovsk Agricultural Institute selection are created by prolonged pedigree work by the use of complicated reproductive crossbreeding of large white breed pigs, berkshires, and landraces and implementing different stages of inbreeding and strict culling. Population genealogy is represented by three lines and four families (Smetanin, 2005).

Based on genetic and population studies, prof. Smetanin developed the concept of preservation of genetic changeability in a closed local pig population. Further development of these studies is based on introduction and analysis of gene pool of new marker system, including a number of qualitative traits loci (QTL).

Today, one of the most important problems is still development of measures aimed at increase of resistance of young animals to enteric infections. Practice of zootechnics

proves that traditional sanitary and veterinary measures to overcome animal infections are not enough. Thus, the main task of livestock breeding is prevention and overcoming of consequences of such diseases considering significant annual losses of live stock of pigs from edemas and post weaned diarrhea of piglets caused by enteropathogenic *E. coli* (Kolacz, 2009).

Factors affecting the process of animals infected with pathogenic *E. coli* are considered to be sialoglycoprotein of intestine mucus mucin 4 (*MUC4*) and fucosyling ferment α -fucosyltransferase 1 (*FUT1*) as they participate in molecular interaction between bacterial cells, including fimbriae of F4 and F18 type and cells of intestine epithelium of piglets.

Polymorphism of sequences of *MUC4* and *FUT1* gene of pigs influences characteristics of products of their expression. Transversion G $\rightarrow$ C in position 1849 b.p. of *MUC4* gene causes synthesis of mucin 4, which does not absorb pathogenic *E. coli*. Transition G $\rightarrow$ A in position of 307 b.p. of *FUT1* gene causes supersynthesis of α fucosyltransferase 1 that competitively blocks receptor combinations for bacterial cells on the surface of erythrocytes. *MUC4* and *FUT1* genes represent diallele codominant systems (Bosworth, 2005; Jorgensen, 2010).

The possibility for application of *FUT1* and *MUC4* genes polymorphism in the process of breeding pigs of interbreed type of Dnepropetrovsk Agricultural Institute selection arouses practical interest. It is also necessary to estimate desired genotypes in lines and families of the studied population in order to discover genealogical structures that are the most prospective for selection on resistance to colibacillosis.

Determination of genotypes was carried out among boars and sows of a population of Dnepropetrovsk Agricultural Institute selection, which are bred at Lugovskoye Ltd. in Solonyansk district, Dnepropetrovsk oblast. DNA was isolated from biological material of blood spots and bristle of animals using ion exchange resin Chelex 100 (Armas, 2006). Animal genotype estimation for *FUT1* and *MUC4* was carried out at the genetic laboratory of the Institute of Pig Breeding and Agro Industrial Production, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, by the PCR-RFLP method (Wenzel, 2002). PCR was carried out in standard reaction mixture (Tapotili, Russian Federation) in a

Tertsik amplifier (DNA Technology, Russian Federation) according to the program: 94°C for 5 min; 35 cycles: 94°C for 40 s; 60°C for 40 s, and 72°C for 5 min for *MUC4* and *FUT1* sequences.

For identification of *FUT1* gene fragment 161 b.p. in size, the following primers were used: foreword 5'-CCAACGCCTCCGATTCCTGT-3', and reverse 5'-GTGCATGGCAGGCTGGATGA-3' (Bosworth, 2005).

For identification of *MUC4* gene fragment 367 b.p. in size, the following primers were used: foreword 5'-GTGCCTTGGGTGAGAGGTTA-3' and reverse 5'-ACTCTGCCGTTCTCTTTCC-3' (Jorgensen, 2010).

PCR synthesized *FUT1* gene fragments were split by endonuclease *HinPI*, while *MUC4* gene fragments were spit by endonuclease *XbaI* in conditions recommended by producing company (Fermentas, Lithuania).

The analysis of restriction fragments was carried out by electrophoresis in 8% polyacrylamide gel and visualization was carried out by staining polyacrylamide gel with ethidium bromide. Then, they were scanned in ultraviolet light through a transilluminator.

Studies on the animal litter microflora were performed at the Department of Biotechnology and Life Safety at Ukrainian State University of Chemical Technology by the standard method, according to the manufacturer recommendations of the medium Compact Dry EC (Nissui Pharmaceutical CO LTD, Japan).

Statistical processing of results was carried out with the use of distribution analysis of alleles and genotype frequencies in the population and its structural units. Calculations of genetic distances and genetic identity, as well as design of dendrogram of phylogenetic links, was accomplished according to the program MEGA 5 (Tamura, 2011).

DNA tagging revealed genetic polymorphism of *FUT1* and *MUC4* genes among studied groups of population animals. In general, population of pigs of Dnepropetrovsk Agricultural Institute selection is characterized by lowered frequency (0.29) of desired allele A at *FUT1* gene. In the inbred group of animals, the frequency of allele A was 0.09 lower than among all animals with particular genotypes. Distribution of alleles and genotype frequencies on *FUT1* gene was significantly different for animals of outbred

and inbred groups. GG genotype prevails among inbred animals (0.71), and AG (0.63) prevails among outbred.

The frequency of alleles of inbred animals was removed by 0.09-0.14 towards undesired G genotype with regard to other studied groups. It is necessary to admit that genotype distribution on *FUT1* gene among boars and sows approaches the indices of the herd in general.

Today, polymorphism of *FUT1* gene in the population of large white breed pigs is studied in depth in Eastern European countries, and concentration of desired allele A is within the range 0.12–0.24. It is compared with data obtained in our research (Konoval, 2008; Loban, 2010; Kostenko, 2013; Kostyunina, 2016).

This tendency of distribution of allele variants is typical for commercial breeds—large white, landrace, duroc, pietrain, which are popular in Central and Western Europe (Bosworth, 2005; Koacz, 2009). However, a number of pigs with AA genotype of *FUT1* gene reached 35.5% (zlotnitski spotted breed) and 83% (przheshtitski dark-spotted breed) in the populations of some local breeds of Poland and the Czech Republic (Klukowska, 1999, Vrtkova, 2007). According to studies conducted in China (Yan, 2003; Bao, 2008), a majority of local breeds of pigs and population of Asian wild boar do not have mutations G gene in the position 307 b.p.

We established that population is characterized by a high level of polymorphism on *MUC4* gene. Most animals were represented by GG genotype associated with resistance of young animals to intestinal disorders caused by pathogenic *E. coli*. It is necessary to mention that a high concentration of G allele (0.72) and absence of animals with undesired CC genotype are typical for the inbred line of Ukrainian meat breed pigs (Dnepropetrovsk Agricultural Institute selection).

According to studies of main European pigs breeds for the presence of polymorphism of *MUC4* gene, it was found that GG genotype is rare in animals of landrace breed (0.2%), Yorkshire breed (20%), and, most often, Duroc (88.3%) and Hampshire breeds (97.9%) (Jorgensen, 2004; Matousek, 2011).

Also, exceptionally low concentration of AA genotype on *FUT1* gene in the population leads to absence of AAGG and AACC genotype variants, and AAGC

genotype is seen with frequency 0.06 (four specimen). However, approximately a third of all animals are heterozygous for both genes. This enables us to carry out further pairing in order to obtain homozygous progeny by A and G alleles, *FUT1* and *MUC4* genes, respectively. Crossbreeding of parental forms with AAGC and AGGG genotypes allows us to obtain half progeny with the most favorable combination of alleles (AAGG) in the first generation.

We emphasize that small excess of values of observed heterozygosity in comparison with that expected is typical for the whole population and also boars and sows groups of *FUT1* gene. However, for the inbred group a higher expected heterozygosity was observed than the observed ($H_E = 0.320$, $H_0 = 0.171$), and for outbred animals we observe the opposite pattern ($H_E = 0.448$, $H_0 = 0.643$). Observed heterozygosity was higher than that expected at *MUC4* gene in all groups of animals. The lowest fixation index and, accordingly, selection load were typical for groups of boars (-0.026), and the highest one (-0.385) was for the inbred line.

Among all the studied genealogical groups of the population, polymorphism for the *FUT1* and *MUC4* genes discovered. For both loci in the Volnitsa families and for the *MUC4* gene in Stepnaya, only heterozygotes sensitive to colibacteriosis were found out. The family Gordaya for the studied loci was represented by three possible genotypes. In the families Stepnaya and Pobeda, sensitive heterozygotes (AG genotype) and homozygotes (GG genotype) were discovered.

AA genotype (*FUT1* gene) substantiated resistance to pathogenic *E. coli* was found in animals of the family Gordaya with frequency 0.07.

All three genotypes for *MUC4* were detected in the families Gordaya and Pobeda. The frequency of occurrence of GC genotype for *MUC4* gene was 0.56 and 0.46, respectively, in the families Gordaya and Pobeda, and GG genotype was 0.31 in both families.

Among boars of Dnepropetrovsk Agricultural Institute selection for *FUT1* gene in the Bystry line, there are animals with AA genotype and frequency 0.10. Concentration of AG genotype (sensitive heterozygotes) among population lines is 0.53 for Borets, 0.38 for Bystry, and 0.75 for Orekh. Undesired GG genotypes of sensitive homozygotes occur

with a frequency of 0.47, 0.52, and 0.25 among lines of Borets, Bystry, and Orekh, correspondingly. At *MUC4* gene, boars with undesired CC genotype among lines of Borets, Bystry, and Orekh have a frequency of 0.10, 0.15, and 0.25, and number of GC heterozygotes is 0.60, 0.53, and 0.75, respectively. The frequency of desired GG genotype on *MUC4* gene in lines of Borets and Bystry is 0.32 and 0.30.

The study of the influence of the genotype of the parental forms on the growth rate of piglets in the period from birth to 21 days revealed the dependence of the conservation of piglets on the genotypes of boars and sows. In the presence of allele A (*FUT1* gene) in the genotype of both parents forms (AA x AG and AG x AG), the conservation of piglets increased significantly ($P < 0.05$) by 14.5 and 14.0%. When mating boars and sows with the GG genotypes by the *MUC4* gene, an increase in the conservation of piglets before weaning was found compared with animals with GC genotype of 7.0% and animals with a GG genotype of 23.1%.

Key words: Ukrainian meat breed, population, pigs, polymorphism, locus, gene, *FUT1*, *MUC4*, heterozygosity, Wright fixation index, family, line.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації в наукових фахових виданнях України

1. Саєнко А.М., Балацький В.М., **Сировнєв Г.І.**, Сметанін В.Т. Поліморфізм локусів *FUT1* та *MUC4* у популяції свиней української м'ясної породи селекції Дніпропетровського СГІ. *Свинарство*. 2012. Вип. 60. С. 76–79. *(Здобувачем проведено відбір зразків біометеріалу, постановка методики експерименту, проведення лабораторних досліджень)*.
2. **Сировнєв Г.І.** Генетична мінливість популяції свиней селекції ДСГІ за локусами *FUT1* та *MUC4*. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2012. Вип. 24 (ч. 1). С. 55–59.
3. **Сыровнев Г.И.** Генеалогическая структура популяции свиней селекции Днепропетровского сельскохозяйственного института по полиморфным локусам *FUT1* и *MUC4*. *Науково-технічний бюлетень Інституту тваринництва НААН*. 2012. Вып 108. С. 107–111.
4. **Сировнєв Г.І.** Вплив поліморфізму гену альфа-фукозилтрансферази-1 на господарські корисні ознаки свиней у закритій популяції. *Свинарство*. 2013. Вип. 62. С. 194–198.
5. **Сировнєв Г.І.**, Сметанін В.Т. Поліморфізм гена муцин 4 (*MUC4*) у закритій популяції свиней та вплив його алельних форм на господарські корисні ознаки. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2013. Вип. 9. С. 42–45. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано їх статистичну обробку та підготовлено матеріали до друку)*.
6. **Сировнєв Г.І.**, Микитюк В.В., Хмельова О.В. Наявність потенційного збудника колібактеріозу у популяції свиней локальної селекції української м'ясної породи. *Розведення і генетика тварин*. 2020. Вип. 59. С. 115–123. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано їх статистичну обробку та підготовлено матеріали до друку)*.

Наукові праці апробаційного характеру

1. **Syrovnev G.I.** Genetic Determination Of Piglets Postweaning Survival. Хімія та сучасні технології : тези доповідей V Міжнар. наук.-техн. конф. студентів, аспірантів та молодих учених 20–22 квітня 2011 р. Дніпропетровськ: УДХТУ, 2011. С. 457. 19
2. **Сыровнев Г.И.,** Кунева Л.В., Сметанин В.Т. Повышение продуктивности и сохранности поросят в постнатальный период при использовании инбредных хряков селекции Днепропетровского СХИ. Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології : Збірник наукових праць IX з'їзду УТГіС. К.: Логос, 2012. Т. 3. С. 262–267. *(Здобувачем проведена статистична обробка даних експериментів та підготовка матеріалів до друку).*
3. Кунева Л.В., **Сыровнев Г.И.,** Сметанин В.Т., Степневская Я.В., Ковальчук Л.Н. Сохранение генетической изменчивости в локальных популяциях домашних животных. Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы (к 100-летию со дня рождения академика Н.В. Турбина) : материалы Междунар. науч. Конф. 8–11 октября 2012 г. Минск, 2012. С. 136. *(Здобувач брав участь в обробці даних та інтерпретації отриманих результатів).*
4. **Syrovnev G.I.,** Smetanin V.T. The Effect Of Polymorphism In Mucin 4 (*MUC4*) Gene On Quantitative Traits Of Pigs. Хімія та сучасні технології : тези доповідей VI Міжнар. наук.-техн. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених 24–26 квітня 2013 р. Дніпропетровськ, 2013. С. 13. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано статистичну обробку даних та підготовлено матеріали до друку).*
5. **Сыровнев Г.И.** Структура генофонду закритої популяції свиней української м'ясної породи за локусами *FUT1* та *MUC4* : матеріали XI Наук. конф. молодих вчених та аспірантів 16 травня 2013 р. Чубинське: ІРГТ НААН., 2013. С. 74–75.

6. **Сировнев Г.І.,** Сметанін В.Т. Ветеринарна генетика – запорука екологічно чистого свинарства. Екотрофологія. Прогрес, проблеми, перспективи екологічно безпечного виробництва : матеріали IV міжнар наук.-практ. конф., присвяченої 10-річчю кафедри екотрофології БНАУ 10 жовтня 2013 р. Біла Церква: БНАУ, 2013. С. 106. *(Здобувач брав участь в обробці даних та інтерпретації отриманих результатів та підготував матеріали до друку).*

7. **Сировнев Г.І.** Генетична обумовленість стійкості поросят до колібактеріозу із різними алельними формами генів *FUT1* та *MUC4*. Актуальні питання технологій тваринництва та ветеринарної медицини : матеріали Всеукр. наук.-практ. інтернет-конф., присвяченої 100-річчю факультету технологій продукції тваринництва та менеджменту 17 грудня 2020 р. Харків: Харківська державна зооветеринарна академія, 2020. С. 63–66.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	24
1.1. Генетико-популяційні методи формування сучасних культурних стад свиней.....	24
1.1.1. Популяційні підходи формування структури генофонду.....	24
1.1.2. Маркер-залежна селекція (MAS) та її використання у селекції тварин.....	27
1.2. ДНК-дослідження у тваринництві.....	33
1.2.1 Полімеразна ланцюгова реакція.....	33
1.2.2. Маркери, що використовуються в генетичній діагностиці популяцій.....	34
1.2.3. Однонуклеотидні поліморфізми (SNPs) та методи їх ідентифікації.....	38
1.3. Гени господарськи корисних ознак (QTL) свиней.....	40
1.3.1. Деякі маркерні гени, що використовуються у свинарстві.....	40
1.3.2. Поліморфні гени <i>ECR F18/FUT1</i> та <i>ECR F4/MUC4</i> , що зумовлюють стійкість свиней до колібактеріозу.....	42
1.4. Колібактеріоз та набрякова хвороба свиней	44
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	46
2.1. Постановка проблеми.....	46
2.2. Об'єкти та методи, що використані в роботі.....	49
2.3. Характеристика закритої популяції свиней селекції ДСПІ.....	51
2.4. Обладнання.....	53
2.5. Методика визначення генотипів свиней за генами <i>FUT1</i> та <i>MUC4</i>	54
2.5.1 Відбір зразків біологічного матеріалу	55
2.5.2 Виділення ДНК із крові тварин за допомогою Chelex-100.....	55
2.5.3. Проведення ПЛР-ПДРФ аналізу.....	56
2.5.4. Електрофорез продуктів рестрикції.....	58

2.4. Мікробіологічне дослідження клінічного матеріалу.....	58
2.5. Методи статистичної обробки результатів.....	59
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	62
3.1. Оптимізація методу ПЛР-ПДРФ	
для визначення поліморфізму генів <i>FUT1</i> та <i>MUC4</i>	62
Висновки до розділу 3.1.....	64
3.2. Генетична мінливість популяції свиней селекції ДСГІ	
за генами <i>FUT1</i> та <i>MUC4</i>	65
Висновки до розділу 3.2.....	73
3.3. Генеалогічна структура популяцій свиней за генами <i>FUT1</i> та <i>MUC4</i>	74
Висновки до розділу 3.3.....	76
3.4. Продуктивність та збереженість поросят у ранній	
постнатальний період при застосуванні традиційних методів розведення...	77
Висновки до розділу 3.4.....	80
3.5 Відгодівельні якості поросят, отриманих при застосуванні	
традиційних методів розведення.....	81
Висновки до розділу 3.5.....	84
3.6. Репродуктивні якості свиней за генами <i>FUT1</i> і <i>MUC4</i>	85
Висновки до розділу 3.6.....	86
3.7. Вплив поліморфізму генів <i>FUT1</i> та <i>MUC4</i>	
на збереженість підсисних поросят.....	87
Висновки до розділу 3.7.....	90
3.8. Виявлення <i>E. coli</i> та ентеробактерій у кишківнику свиней	91
Висновки до розділу 3.8.....	95
Розділ 4. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	96
Розділ 5. УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	106
ВИСНОВКИ.....	112
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	114
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	115
ДОДАТКИ.....	138

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- MAS – маркер-залежна селекція
- QTL – локуси кількісних ознак
- SNPs – точкові мутації
- ДНК (DNA) – дезоксирибонуклеїнова кислота
- П.н. – пара нуклеотидів
- ДСГІ – Дніпропетровський сільськогосподарський інститут
- ПЛР (PCR) – полімеразна ланцюгова реакція
- ПДРФ (RFLP) – поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів
- FUT1 – ген α -фукозилтрансфераза-1
- MUC4 – ген муцин 4
- ECR – ген-рецептор *Escherichia coli*
- Ryr-1 – ген ріанодинового рецептора
- МН – ген міостатина
- ESR – ген-рецептор естрогена
- MYF4 – ген міогенін-фактора
- MYOD1 – ген фактора, що детермінує зростання міобластів
- MC4R – ген меланокортин-рецептор
- C-Мус – протоонкоген
- PRLR – ген пролактин-рецептор
- FSHB – ген фолікулостимулюючого гормону β
- GH – ген гормона росту
- IGF-2 – ген інсуліноподібного фактора росту 2
- BLUP – модель найкращого лінійного неупередженого прогнозування
- AFLP – поліморфізм довжин ампліфікованих фрагментів
- ISSR – міжмікросателітний поліморфізм
- SSR – послідовності простих повторів
- RAPD – довільно ампліфікована послідовність ДНК
- SSCP – конформаційний поліморфізм одноланцюгової послідовності
- OFR – відкрита рамка зчитування (open reading frame)
- F_{IS} – індивідуальний індекс фіксації Райта
- H_e – гетерозиготність очікувана (expected heterozygosity)
- H_o – гетерозиготність спостережена (observed heterozygosity)
- FAO – Food and Agricultural Organization – Продовольча та сільськогосподарська організація ООН

ВСТУП

Актуальність роботи. ДНК-технології дають можливість реалізувати принципово нові підходи в селекції тварин. Насамперед це генетична ідентифікація конкретних особин із наступним генетико–популяційним аналізом, що забезпечує отримання кількісних характеристик генофондів досліджуваних популяцій. При цьому пошук та використання ДНК-маркерів дозволяють виокремити певні господарськи корисні ознаки, виявити точкові мутації, визначати їх вплив на тварин та вести спрямовану селекцію. Дослідження тварин за генами кількісних ознак (Quantitative Trait Loci) дає можливість передбачати господарську цінність тварини на рівні ДНК у ранньому віці й навіть ще до її народження. Метод вивчення потенційних генів господарськи корисних ознак широко використовується в сучасній зооінженерії як процедура ідентифікації генів з важливими фенотиповими проявами і їх використанням у програмах генетичного покращення [5, 6, 25, 34, 58, 209-211]. Поряд із традиційними методами добору та підбору тварин селекція за генотипом сприяє швидкому введенню до генофонду популяції бажаних алелів генів, що дозволяє значно підвищити ефективність селекції.

Вивчення генів, асоційованих із господарськи корисними ознаками в наявних популяціях сільськогосподарських тварин, є досить **актуальним** та перспективним як з **практичної точки** зору, так і з теоретичної. Це дозволить більш чітко, на якісно новому рівні формувати вектор добору, відповідно до завдань селекції отримувати нову наукову інформацію про зміни в генофонді та взаємовідношення генотип–середовище.

В Україні проблема підвищення життєздатності новонародженого молодняку свиней залишається гострою та вимагає нагального вирішення. Однією з основних причин, що викликають зниження збереженості поросят, є шлунково-кишкові захворювання, зумовлені колібактеріозом, збудником якого є ентеротоксичні бактерії *Escherichia coli*.

До факторів, що ускладнюють лікування й профілактику колібактеріозу, насамперед належать: мінливість біохімічних властивостей і множинна стійкість

збудника до різних антибактеріальних препаратів, а також недостатня вивченість молекулярно-генетичних структур ешерихій, відповідальних за їх патогенні та імуногенні властивості. Одним з перспективних шляхів вдосконалення специфічної профілактики зазначеного захворювання є проведення селекційних заходів, спрямованих на підвищення генетичної стійкості молодняку до колібактеріозу. У зв'язку із цим практичний інтерес має вивчення генів, що забезпечують різну норму реакції організму поросят при контакті із *E. coli* та можливість використання в селекційному процесі таких алельних форм, що забезпечують формування стійких до колібактеріозу генотипів, а також створення на їх основі популяцій свиней, резистентних до захворювання.

Зі специфічних факторів інфікування поросят важливу роль відіграють фімбрії F18 та F4 *E. coli*. Поліморфізм генів рецепторів *E. coli* F18 та F4 (*ECR F18/FUT1* та *ECR F4/MUC4*) забезпечує різноманіття їх алелів, які реалізуються різним ступенем потенційної можливості ентеротоксичних *E. coli* колонізувати кишківник свиней [159, 170, 189, 201, 223–225,].

Незважаючи на велике значення генотипів, що детермінують свої продукти, реалізовані в якості молекулярних рецепторів або речовин, здатних впливати на утворення комплексу *E. coli*/ентероцит, вітчизняні науковці та заводчики не поспішають використовувати розробки цієї сфери на практиці. Однак у країнах далекого зарубіжжя зібрано досить великий масив інформації за цією проблематикою [132, 166–170, 195, 197, 199, 221–227, 239–244 та ін].

У країнах СНД проведені дослідження з виявлення поліморфізму генів *FUT1* та *MUC4* у популяціях свиней великої білої породи [33, 36, 45, 47, 50, 51, 72]. Однак у популяціях місцевих локальних порід України дослідження проводились лише частково [72, 73].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась згідно з планом науково-дослідних робіт Дніпровського державного аграрного університету за темою «Гени *ECR F18/FUT1* і *ECR F4/MUC4* та їх вплив на господарсько корисні ознаки свиней у закритій популяції» (номер держреєстрації 0110U007363).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є проведення генетико-популяційного аналізу генофонду закритої популяції свиней внутрішньопородного типу української м'ясної породи за генами *FUT1* та *MUC4* та встановлення впливу різних генотипів за досліджуваними генами на господарськи корисні ознаки тварин в умовах центральної степової зони України.

Для вирішення цієї мети були сформульовані наступні завдання:

- визначити вплив різних алельних форм генів *ECR F18/FUT1* і *ECR F4/MUC4* на стійкість до колібактеріозу;
- удосконалити існуючі ПЛР-ПДРФ тест-системи для ідентифікації генетичного поліморфізму генів *ECR F18/FUT1* і *ECR F4/MUC4* та провести її апробацію;
- оцінити концентрацію різних алелів генів *ECR F18/FUT1* і *ECR F4/MUC4* у генофонді закритої популяції свиней;
- вивчити структуру закритої популяції свиней за генотипами вказаних генів;
- вивчити збереженість та відгодівельні якості молодняку свиней різних генотипів за досліджуваними генами в період підсосу й після відлучення та порівняти їх із відповідними показниками при застосуванні традиційних методів розведення;
- провести моніторинг видового й кількісного складу мікрофлори шлунково-кишкового тракту тварин різних генотипів за генами досліджуваними генами;
- розробити план підбору батьківських форм для створення лінії, стійкої до колібактеріозу.

Об'єкт дослідження: резистентність до патогенних *E. coli* свиней із різними генотипами за генами *MUC4* та *FUT1*.

Предмет досліджень: вплив різних генотипів за генами *MUC4* та *FUT1* на збереженість підсисних та відлучених поросят, їх подальшу продуктивність, а також аналіз структури генофонду закритої популяції свиней за досліджуваними генами.

Методи дослідження: зоотехнічні — оцінка відтворювальної здатності та продуктивності свиней; генетичні — добір та підбір тварин за бажаними алелями конкретних генів; молекулярно-генетичні — ПЛР-ПДРФ аналіз біоматеріалу; генетико-популяційні — аналіз структури алелефонду за досліджуваними генами з

оцінкою консолідації та диференціації; мікробіологічні — визначення кількісно-якісного складу мікрофлори кишківника поросят; біометричні — визначення середніх величин та їх похибок, коефіцієнтів кореляції та регресії, показників ймовірності результатів експериментів.

Наукова новизна отриманих результатів. *Уперше* на вітчизняній науково-технічній базі проведено визначення генетичного поліморфізму свиней за генами α -фукозилтрансферази-1 (*FUT1*) та муцину 4 (*MUC4*), що впливають на адгезію ентеропатогенних *E. coli* на клітинах епітелію кишківника поросят.

Удосконалено наявну тест-систему (ПЛР-ПДРФ аналіз) для визначення поліморфізму генів *FUT1* та *MUC4* шляхом підбору умов ампліфікації.

Визначено генетичну структуру закритої популяції свиней селекції Дніпропетровського СГІ та її генеалогічних елементів (ліній та родин) за генами *FUT1* і *MUC4*. Встановлено, що за досліджуваними генами для популяції характерний високий рівень поліморфізму, а розподіл частот та генотипів близький до рівноважного відповідно до закону Харді-Вайнберга. Виявлено, що поросята, отримані від батьків із генотипами AA та AG за геном *FUT1*, а геном *MUC4* — GG та GC мали збереженість у підсисний період на $5,3 \div 23,2$ % і $14,3 \div 23,8$ % відповідно вищу, ніж отримані від батьків з іншими генотипами.

Знайшли подальший розвиток теоретичні та практичні принципи селекційної роботи у свинарстві шляхом введення/доповнення до критеріїв добору та підбору тварин чотирьох алелів двох генів, що детермінують експресію білків, які реалізуються різним ступенем стійкості до колібактеріозу.

Практичне значення роботи. Вивчення генофонду закритої популяції свиней селекції ДСГІ за генами *FUT1* і *MUC4* дозволило оцінити генетичний поліморфізм зазначених генів, концентрацію бажаних алелів у різних структурних елементах популяції. Встановлено продуктивність та стійкість до колібактеріозу тварин-носіїв відповідних алельних варіантів досліджуваних генів, що дозволило, користуючись отриманими даними при доборі та підборі, підвищити збереженість поросят на 23,8% та розробити схему селекції, спрямовану на насичення генофонду бажаними алелями A і G відповідно до генів *FUT1* та *MUC4*.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційних досліджень доповідалися та отримали позитивну оцінку на міжнародних та всеукраїнських наукових конференціях: V та VI Міжнародних науково-технічних конференціях студентів, аспірантів та молодих вчених «Хімія та сучасні технології» (м. Дніпропетровськ, 2011 і 2013 р.р.); VII та VIII Міжнародних наукових конференціях «Фактори експериментальної еволюції організмів» (м. Алушта, 2011 і 2013 р.р.); IX та XI Наукових конференціях молодих учених та аспірантів Інституту розведення і генетики тварин НААН (с. Чубинське, 2011 і 2013 р.р.); Міжнародній науковій конференції «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (м. Мінськ, 2012 р.); IX з'їзді Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова (м. Алушта, 2012 р.); Міжнародній конференції «Роль фізіології тварин у вирішенні сучасних проблем аграрної освіти, науки та виробництва» (Полтава, 2013 р.); Міжнародній молодіжній науковій конференції «Нові часи: нові Вавилови, нові Квасницькі» (Полтава, 2013 р.); IV Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 10-річчю кафедри екотрофології БНАУ (м. Біла Церква, 2013 р.); Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції, присвяченій 100-річчю факультету технологій продукції тваринництва та менеджменту «Актуальні питання технологій тваринництва та ветеринарної медицини» (м. Харків, 2020 р.)

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових праць, з них 6 у фахових виданнях і 7 тез доповідей конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота написана на 144 сторінках, складається з таких розділів: вступ, огляд літератури, методи та методики досліджень, результати досліджень, обговорення результатів досліджень, узагальнення результатів досліджень, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел та додатків. Робота включає 28 таблиць та 19 рисунків. Список літератури включає 246 джерел, у тому числі 152 латиницею.

РОЗДІЛ І ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Генетико-популяційні методи формування сучасних культурних стад свиней

1.1.1. Популяційні підходи формування структури генофонду

Застосування методів на основі популяційної генетики та статистики дозволило досягти значного розвитку ефективності виробництва продукції тваринництва. Але такі селекційні системи засновані на спрощених моделях генетичної взаємодії, що нівелювали велику кількість неалельних генів із невеликим сумарним ефектом (полігени), що не виражено у фенотипі, або середню генних ефектів (адитивний ефект) за рахунок їх взаємодії. Проте за допомогою такого роду взаємодії контролюється близько 95% господарськи корисних ознак. Прогнозування племінної цінності тварин при цьому здебільшого засноване на використанні фенотипічної та генеалогічної інформації. Теоретичне обґрунтування якості традиційної системи розведення, що лише певною мірою враховувало ефекти взаємодії неалельних генів, базувалося на рівнях відповідності кореляції випадкових ефектів селекції та знайшло реалізацію в змішаній лінійній моделі та найкращого лінійного неупередженого прогнозування (BLUP — Best Linear Unbiased Prediction) [151].

Добре відомо, що формування генофонду культурних популяцій здійснюється під ретельним селекційним контролем. При цьому головним критерієм добору протягом довгих років був лише фенотип тварини або рослини. Племінна робота з тваринами ґрунтується в основному на двох підходах: чистопородному розведенні, коли для їх вдосконалення використовуються особини однієї популяції, структурованої за ступенем спорідненості на типи, лінії і родини, і схрещуванні — обміні селекційного

матеріалу між двома або кількома породами. Ці методи досить давно й широко використовуються також у практиці свинарства [13].

У другій половині XX століття у свинарство з селекції рослин і птахівництва став проникати новий метод розведення — гібридизація, яка являє собою роздільну селекцію батьківських форм для подальшого схрещування з метою гарантованого прояву у товарному гібриді генетичних ефектів, що реалізуються через гетерозис [3, 70, 151]. Гібридизація за суттю є творчим, науково обґрунтованим розвитком схрещування, що спирається на емпіричні оцінки генетичного різноманіття в різних породах.

У середині XX століття починає складатися концепція контрастних паруваль, у методичному підході якої вже можна побачити елементи генетичних уявлень про процеси, що відбуваються при схрещуванні. У ній ефективність конкретного схрещування визначалася альтернативними, протилежними за напрямом, типами конституції батьківських пар. Вважалося, що ефект від схрещування у цьому випадку зумовлюється в основному біологічними особливостями нащадків, а також наслідками самого акту різнорідного контрастного схрещування й реалізується у вигляді збільшення гетерозиготності, а також іншого рівня розвитку ознак, частина яких виявилась корисною [66].

Тваринникам-практикам добре відомо, що найбільш простою та досить надійною формою схрещування у свинарстві є промислова. Вихідними формами в цьому випадку є дві різні породи. У багатьох публікаціях відзначені достовірні переваги двопородних помісних свиней за репродуктивними й відгодівельними ознаками над чистопородними тваринами [7, 12, 27, 28, 53, 136, 151].

Водночас деякі автори вказують на проміжний характер успадкування основних селекційно-господарських ознак і відсутність їх переваги в помісах відносно кращої породи, що бере участь у схрещуванні ([11, 93, 151] та ін.). Ф.Ф. Ейснер [93] пояснює це тим, що в самих батьківських формах (породах) є підвищена гетерозиготність тварин.

До другої половини ХХ століття дослідниками різних країн накопичено величезний експериментальний матеріал, присвячений дво- і трипородному схрещуванню свиней і сполучуваності порід. Наприклад, А.Є. Геращенко [19] показала перевагу трипородних помісей (велика біла х українська степова біла х ландрас і велика біла х миргородська х ландрас) за швидкістю росту над чистопородним матеріалом на 7–14 %. Водночас трипородні свині поступалися двопородним на 3–7 % за цією ознакою. З.А. Ротермель та І.В. Сенкевич [71] отримали протилежний результат. За їх даними, двопородні тварини від великих білих свиноматок і кнурів великих чорних мали середньодобове збільшення маси на 13 % більше, ніж чистопородні. За іншими ознаками двопородні тварини перевершували чистопородних на 7 %, а трипородні на 18 %. Об'єктивна можливість успіху три- і багатопородного схрещування у свинарстві зумовлена еволюційною історією виду. Ще в першій третині минулого століття було показано [66], що в сучасних порід свиней є загальні генетичні корені, а історичний розвиток свиней ішов конвергентно, тобто шляхом сходження їх господарських ознак.

Гібридизація є більш складною та високоорганізованою формою племінної роботи зі свинями порівняно з простим двопородним і трипородним схрещуванням. Вона дає прогнозований і досить високий рівень гетерозису у потомства — товарних гібридів.

За рахунок гібридизації вдалося подолати ряд труднощів, що є при чистопородному розведенні та схрещуванні свиней. Вона дозволила об'єднати в гібриді цілий ряд господарських ознак, що не мають позитивної кореляції між собою [3], дала можливість ввести до популяції, закритої породними бар'єрами, потрібні гени та забезпечує систематичне отримання гетерозисних ефектів.

Багато культурних порід значно відрізняються від диких предків і між собою за селекційними ознаками. В. Глазко [21] пише, що завдяки компоненту середовища й зусиллям селекціонера, реалізуються певні програми розвитку, характерні вказаному генотипу. Ці програми успадковуються, збагачуються й вдосконалюються в процесі селекційної роботи, але автор підкреслює, що різка зміна фенотипу тварин при селекції

не є наслідком виникнення нових генів, а зумовлена проявом наявного в геномі одного з варіантів комплексної міжгенної взаємодії.

Таким чином, можна говорити про те, що при селекції йде цільовий, персональний добір, спрямований на реорганізацію систем, що формують генотип і фенотип. А точкою докладання природного добору є популяція, максимальна її пристосованість до конкретного середовища існування [22, 86].

Розуміння ролі добору, а саме екологічної його складової, прийшло вже на найбільш ранніх етапах формування популяційних уявлень. Інтенсивна селекція сільськогосподарських тварин призвела до прояву тих негативних явищ, про які попереджали генетики: це, насамперед, зменшення мінливості й зниження стійкості культурних популяцій, для підтримки яких потрібні підвищені витрати [2].

Питання про збереження генетичної мінливості та водночас високої продуктивності в популяціях свійських тварин постало настільки гостро, що потребує рішення на державному й міжнародному рівнях [38, 94].

1.1.2. Маркер-залежна селекція (MAS) та її використання в селекції тварин

В останні десятиліття відкриття нових методів ідентифікації ДНК та її первинних структур значною мірою розширило наші знання в області генетичних маркерів, і водночас дозволило більш ефективно впливати на формування генофондів порід, ліній і стад як на якісному, так і на часовому рівнях.

Слід відзначити, що використання молекулярно-генетичних маркерів може допомогти виправити деякі недоліки традиційних методів, що засновані на тестуванні тварин за групами крові та біохімічними поліморфними системами, а саме: дасть можливість у більш короткий термін на рівні первинних структур ДНК отримувати кількісну інформацію, на підставі чого дозволить характеризувати генеалогічні структури генофонду, виявляти генетичні аномалії без застосування складного й дорогого методу генетичної експертизи за потомством.

Можливість розробки генетичних карт для кожного виду дозволяє проводити повну оцінку геному для виявлення генів кількісних ознак (QTL), що мають добре виражений прояв у фенотипі. Ця інформація досить довгий час використовується в генетичних програмах [172]. Крім того, прогрес статистичних і математичних методів, що застосовуються в моделюванні генетичних процесів, допомагає оптимізувати використання молекулярної і фенотипічної інформації в процесі добору [115, 153].

Молекулярні методи дозволяють виявляти зміни або поліморфізми, що існують серед особин популяції в конкретних регіонах (генах) їх ДНК. Поліморфізми можуть використовуватися для створення генетичної карти й оцінки відмінностей між маркерами за експресією певних ознак у родинах, які вказують на прямий вплив цих відмінностей з точки зору генетичної детермінації ознаки, тим більш, що можна виявити, якою мірою здійснюється взаємодія гена кількісної ознаки і маркера [96, 179, 212].

Розроблено багато методів для виявлення наявності експресуючих генів на основі аналізу даних родословних за відсутності молекулярної інформації [115]. Ці методи, засновані на різних моделях схрещування й аналізу розподілу ознак, дозволяють спрямувати потенційно дорогі та тривалі багатостадійні дослідження з визначення генотипів у популяціях і подальшої оцінки характеристик, що контролюються генами кількісних ознак, та оптимізувати збір молекулярних даних [172].

Існують дві основні категорії генетичної інформації, що можуть використовуватись для поліпшення господарськи корисних характеристик свійських тварин:

1. Гени, що відповідають за експресію певних білків.
2. Гени, що можуть бути виявлені через певний вплив на прояв ознак із точки зору статистики. Вони являють собою маркери на основних поліморфних послідовностях ДНК, що знаходяться у тій самій хромосомі, тобто зчеплені з геном кількісних ознак (QTL).

Прикладом першого типу у тваринництві є:

1.1 Ген, пов'язаний із злоякісною гіпертермією свиней. У випадку (C→T) мутації в позиції 1843 п.н. відбувається порушення шляхів обміну кальцію в гені ріанодинового рецептору (*Ryr1*), що в рецесивних тварин зумовлює високу ймовірність схильності до вказаного захворювання [210, 219].

1.2 Ген міостатину (*MH*), що містить ряд мутацій, які порушують функції обміну міостатину, виявленого в ряді європейських порід великої рогатої худоби, та викликає м'язову гіпертрофію [139].

1.3 Геном багатоплідності у свиней є ген-рецептор естрогену [205].

Підхід для пошуку генів першого типу, відомих як гени-кандидати, заснований на фізіологічній і біохімічній близькості генів з природною характеристикою досліджуваних ознак, допоміг ідентифікувати багато генів кількісних ознак. Дж. Буард [118] всебічно розглянув використання цього методу при досліджуванні захворюваності мишей, так як миші за кількістю виявлених потенційних маркерів першого типу значно перевершують інші види ссавців. Цьому також сприяли відповідні умови для виявлення ознак: наявність інбредних ліній, коротких поколінь і низькі витрати на утримання.

Важливим обмеженням використання підходу генів-кандидатів є полігенний характер більшості ознак у тварин, поява нових мутацій, що можливо передбачити за допомогою QTL (тип 2), який знаходиться дуже близько до кодуючого гена (послідовністю генів), але допускає певну ймовірність рекомбінації, а також дозволяє вивчати можливість присутності взаємодії між генами (епістаз). Цим шляхом можна прослідкувати змінюваність експресії генів у популяціях із різними генотипами (раси або кроси).

Другий тип маркерів відповідає генам, пов'язаним із генами кількісних ознак, із відмінностями, що визначаються за допомогою ПДРФ, мікросателітів або інших подібних молекулярних систем [106]. Кілька досліджень показали взаємозв'язок між молекулярними варіантами і

фенотиповими проявами характеристик на декількох видах тварин [99, 101, 108, 139, 146]. Це стимулювало ідею, що разом із даними, отриманими за фенотипом тварини, потрібно широко використовувати генетичну інформацію, що як результат приводить до спрощення та/або пришвидшення добору у порівнянні із традиційними методами. Цей метод ще відомий як маркер-залежна селекція або MAS. У лабораторних тварин кроси інбредних ліній дозволяють отримати покоління нащадків (F2), що підходить для ефективного виявлення зв'язків QTL-маркер. У нормальних аутбредних стадах свійських тварин зв'язок між маркерами та QTL (нерівноваги за зчепленням) зникає, якщо оцінку проводити за лініями та родинами. Але такі прийоми роблять безглуздим порівняння усереднених ознак тварин із різними молекулярними варіантами, що виникають у популяції за зв'язками маркер-QTL. Інформація, що отримується при схрещуванні в родинах, потрібна для встановлення певного роду взаємодії: асоціацій або зчеплень порушень рівноваги між маркером і QTL [233].

У тваринництві є чотири базові можливості аналізу маркер-QTL зв'язків.

1. Використання F2 популяцій нащадків, отриманих схрещуванням двох однакових F1 батьківських популяцій, або схрещуванням між F1 і отриманої популяції.

2. Використання напівсибсів за батьком, при цьому гетерозиготні плідники для маркування з'єднуються із випадковою вибіркою самок, і в цього потомства визначають генотипи.

3. Використання маточного поголів'я другого покоління, що поєднується із власним батьком та його синами, із визначенням генотипів в їх нащадків.

4. Використання кросів популяцій, що мають екстремальні фенотипові прояви певної ознаки або комбінації ознак. Для цього можна використовувати тварин окремо селекціонованих ліній або популяції з дикими варіантами ознак, що вивчаються. У диких популяціях тільки

використання гетерозиготних плідників буде інформативним для відокремлення маркеру для подальшого маркування та виявлення генів кількісних ознак.

Спосіб 1 дозволяє виявляти QTL, що вже зафіксовані у породі. Методи 2 і 3 є більш придатними для прогнозування впливу QTL на популяцію в межах вибірки.

Як тільки маркери кількісних ознак стають відомими, ключовим питанням залишається визначення розповсюдженості їх серед батьківських генотипів і подальше здійснення добору та маркер-залежної селекції. Генетичні маркери, знайдені серед помісей (наприклад, різних рас, генофондів або видів), мають великі перспективи щодо їх використання для ДНК-діагностики поліморфних батьківських форм у подальшій селекційній роботі (рисунк 1.1).

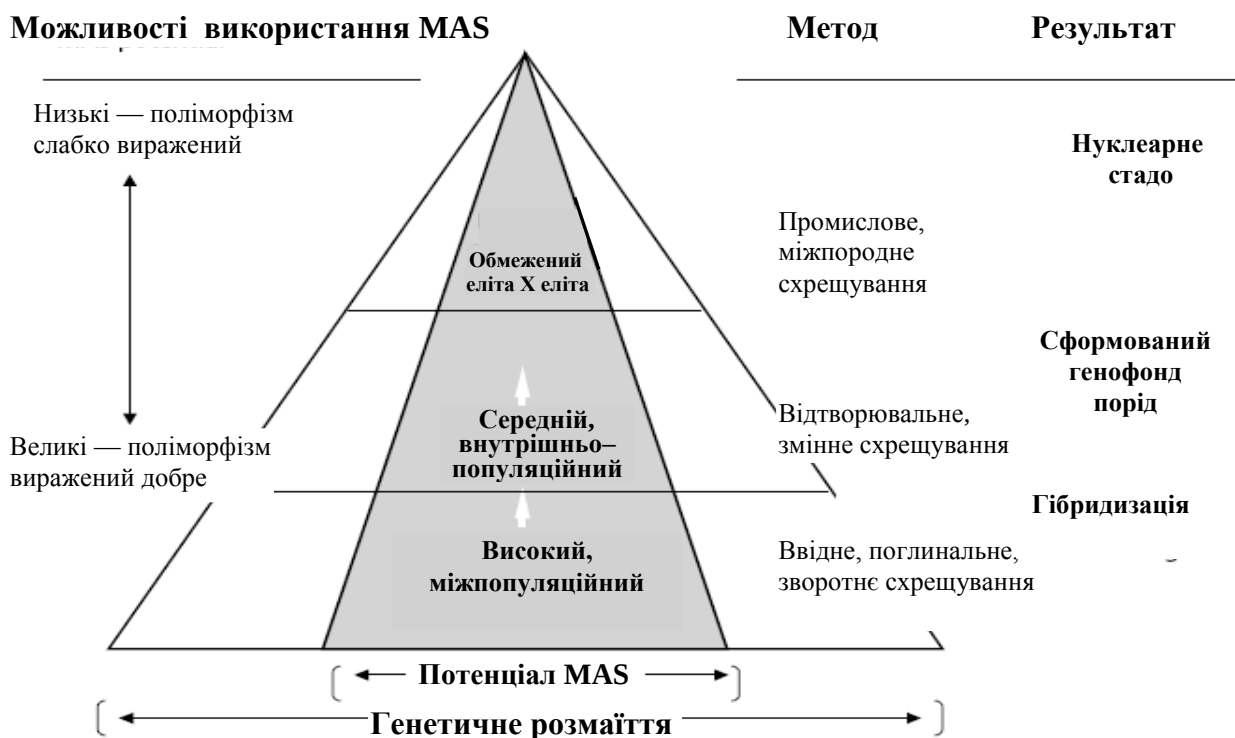


Рис. 1.1. Використання MAS на різних етапах селекційної роботи

Визначення точного положення QTL на хромосомі дозволяє уникнути двозначності, викликаній можливістю рекомбінації між маркером і відповідним геном. У цьому випадку ми повинні строго визначити цей вид добору як маркер-залежну селекцію (MAS). Отже, маркер-залежна селекція -

процес, при якому маркер (морфологічний, біохімічний або заснований на ДНК/РНК варіації) використовується для безпосереднього вибору генетичної детермінанти або детермінанти корисної ознаки (тобто продуктивність, стійкість до хвороб та антибіотиків, стресостійкість, та ін.).

Найпростішим випадком MAS є взаємодія без рекомбінації між маркером і QTL. Використання маркерів у MAS при наявності повної карти геному та кількох відомих маркерів буде більш достовірним, якщо для груп алельних конфігурацій гаплотипів обирати флангові QTL, що перекриваються, ніж один маркер із визначеною локалізацією. Такі гаплотипи здебільшого мають дуже низькі процентні рекомбінації з QTL. Існує декілька праць, автори яких порівнювали використання MAS у закритих популяціях із допомогою QTL за спрощеною полігенною BLUP моделлю та за змішаною моделлю, яка включає в себе полігенні ефекти та ідентифіковані гаплотипи. Виявлено можливе збільшення відповіді на селекційні заходи від 0,2 до 1% у шести поколіннях при використанні одного маркера [184, 210].

Встановлено можливість збільшити до 15% генетичну відповідь при селекції популяції курчат за темпами росту з використанням маркерів порівняно з селекцією, заснованою на доборі в родинках [196].

При використанні MAS досягнуто збільшення із 6 до 15% молоковіддачі у великої рогатої худоби за умови застосування при розведенні трансплантації ембріонів та яйцеклітин у перших шести поколіннях добору [210].

При використанні MAS слід враховувати такі положення:

1. MAS може збільшити швидкість генетичної мінливості у довгостроковій перспективі, коли безперервно знаходяться нові QTL.
2. Додаткові генетичні переваги від MAS отримують за рахунок дуже швидкого зменшення числа поколінь при селекції за QTL.
3. Швидкість ідентифікації нових QTL важко передбачити.

Істотне збільшення селекційної відповіді можна досягти за допомогою MAS кількома способами. Для цього потрібно ретельно обґрунтовувати вибір наступних параметрів: розмір QTL ефектів, частоти алелів, швидкість рекомбінації між маркером і QTL, тип маркеру, залишкова полігенна дисперсія, екологічні відхилення, число поколінь селекції, структури популяції і процедур добору. Пропонується зберегти відносну обережність у розрахунках за відсутності великої експериментальної бази й достатньої кількості змодельованих досліджень, що охоплюють більш конкретні ситуації, які дозволяють досягти певної узгодженості значень різноманітних характеристик і параметрів MAS [184].

1.2 ДНК–дослідження у тваринництві

1.2.1. Полімеразна ланцюгова реакція

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) — це здійснювана *in vitro* специфічна ензиматична ампліфікація нуклеїнових кислот, ініційована синтетичними олігонуклеотидними (праймерами). Методика проведення полімеразної ланцюгової реакції ПЛР (polymerase chain reaction — PCR) уперше застосована Кері Мюллісом у 1983 [188]. Цей метод аналізу ДНК дає можливість використовувати в дослідженнях не тільки кров тварин, а також згідно зі спеціальними методиками інший біологічний матеріал: сперму плідників, волоссяні фолікули, слину, тканини органів відповідно до спеціальних методик [23, 25, 44].

ПЛР-цикл складається з теплової денатурації ДНК, її відпалу із праймером і подовження ланцюга (елонгації); зміна цих етапів відбувається в результаті простої зміни температури. Праймери при цьому орієнтуються на матриці так, що число раундів реплікації росте експоненціально, відповідно збільшується число копій специфічної послідовності нуклеотидів [30, 35, 188].

Застосування молекулярних методів для цілей діагностики обмежується їх невисокою чутливістю й тривалістю аналізу. Так, для виявлення нуклеїнової кислоти–мішені методом гібридизації *in situ* із застосуванням радіоактивно міченого зонду необхідно, щоб мішень була присутня в препараті в декількох тисячах копій. Нерідко кількість аномальних послідовностей у досліджуваному препараті є діагностично значимою, але меншою за цю величину, і гібридизація може дати помилково–негативний результат [30]. На відміну від цього ПЛР дозволяє виявити унікальну нуклеотидну послідовність. Для цього до реакційної суміші додають у великому надлишку специфічні для цієї послідовності олігонуклеотидні праймери («амплімери»), що утворюють з нею комплекс, і проводять реплікацію ДНК *in vitro* [188]. Оскільки амплімери гібридизуються з обома ланцюгами ДНК, то і нативна послідовність, і синтезовані ПЛР-продукти слугують матрицями у наступних раундах реплікації, у результаті чого число копій унікальної послідовності експоненціально збільшується. Завдяки цьому послідовності, присутні в препараті в мінімальній кількості (одна чи кілька копій) і які не піддаються виявленню ніякими іншими методами, легко виявляються за допомогою ПЛР, яка дозволяє знайти лише одну аномальну послідовність на 10^6 – 10^8 нормальних клітин [15, 157, 245].

1.2.2. Маркери, що використовуються в генетичній діагностиці популяцій.

На основі методу полімеразної ланцюгової реакції розроблено достатньо багато методів (див. табл. 1.1) виявлення ДНК-поліморфізму ділянок генетичного матеріалу, тобто ДНК-маркерів [59, 89, 103].

Існує великий клас ДНК-маркерів, що базуються на застосуванні праймерів, які мають множинну локалізацію у геномі, а саме: технології RAPD — Randomly amplified polymorphic DNA та її аналоги, в яких застосовують один праймер з довільною послідовністю; AFLP (Amplified

fragment length polymorphism) використовують праймери зі штучно доданою послідовністю; ISSR (Inter simple sequence repeats) застосовують праймери, комплементарні до повторюваних елементів геному, таких як мікросателіти або транспозони IRAP (Inter-retransposon amplified polymorphism) [58, 95, 235].

Таблиця 1.1

Класи ДНК-маркерів, що засновані на технології ПЛР

Назва маркеру	Тип мутації			Інформативна складова		
	ОНЗ ¹	ІнДел ²	ТП ³	2 домінантні алелі	2 кодомінантні алелі	мультиалельна кодомінантність
RFPL	+	+	+	—	+	+
PCR–RFLP	+	+	+	—	+	—
RAPD	+	+	+	—	—	—
AFLP	+	+	+	+	+	—
SSCP	+	+	+	+	+	+
SNP	+	+	—	—	+	—
Мікро-, мінісателіти	—	+	+	—	—	+

ОНЗ¹ — однонуклеотидні заміни;

ІнДел² — інсерції та делеції;

ТП³ — тандемні повтори.

RAPD маркери (Random Amplified Polymorphic DNA) — суть методу полягає в проведенні полімеразної ланцюгової реакції з використанням праймеру із довільною послідовністю 10–12 нуклеотидів. Для синтезу цих праймерів нема необхідності знати конкретні нуклеотидні послідовності геному, вони лише повинні відповідати вимогам за співвідношенням GC–пар (близько 60%) за довжиною [52, 192, 234].

RAPD-аналіз використовують як експрес-метод виявлення генетичного поліморфізму і як джерело унікальних ген-специфічних маркерів. Ампліфікація з довільними праймерами не потребує попереднього знання послідовності матриці досліджуваної ДНК і відтворюється на одиничні чи множинні сайти в геномі. При цьому ампліфікацію може ініціювати один чи декілька довільних праймерів або комбінація довільного й напрямленого праймерів до специфічних, але невідомих зазвичай поліморфних сайтів у геномі [52, 119].

Усі ці методики різняться розміром праймерів, наявністю в них (від 50 до 80% GC-пар), температурою відпалу та методами виявлення продуктів реакції.

Крім ампліфікації з довільними праймерами існує декілька типів ПЛР, що базуються на ампліфікації зі специфічними праймерами.

AFLP (Amplified fragment length polymorphism) — поліморфізм довжин ампліфікованих фрагментів (AFLP-маркери). Суть методу полягає в тому, що ДНК обробляють комбінацією із двох рестриктаз. Специфічні адаптори зв'язуються з «липкими» кінцями, і фрагменти ампліфікують, використовуючи праймери, що містять спільні з адаптерами послідовності та 1–3 довільні основи. Набір отриманих фрагментів залежить від рестриктаз і використаних праймерів. Для візуалізації фрагментів праймери мітять радіоактивною чи флуоресцентною міткою.

Маркери AFLP використовують для оцінки генетичних особливостей на індивідуальному та популяційному рівнях для широкого діапазону таксонів [152]. Крім того, маркери AFLP застосовують при виборі ліній у комерційних програмах розведення сільськогосподарських тварин для добору, наприклад, для кросбридингу, а також для побудови філогенетичних дерев порід свиней [131], кіз [102, 140] та великої рогатої худоби [194].

Паралельно з розвитком ПЛР відкрито новий тип поліморфізму ДНК, що нині відомий як гіперваріабельні мінісателітні структури ДНК. Мінісателіти представляють ділянки ДНК з поліморфізмами, що складаються з кількох повторюваних динуклеотидів загальним числом близько 25 п.н. Мінісателіти можна використовувати для пошуку генно-маркерних асоціацій, що представляють загальну картину ДНК, як то візуальний відбиток (голограма) певного фізичного об'єкту [94, 113, 179].

Мікросателітні системи складаються з тандемних повторів ДНК у певному гені. Як правило, це прості динуклеотидні пари, що повторюються до десяти разів. Високий ступінь поліморфізму, кількість повторів (n)

дозволяє використовувати їх як маркери для відображення структури певного регіону ДНК [96, 113, 179, 211, 212].

Маркери, засновані на технології мікро- та міні сателітів, мають декілька назв: STMS (Sequence Tagged Microsatellite Site), STR (short tandem repeat), SSR (simple sequence repeat). Для створення маркерів на основі STR підбирають праймери до унікальних послідовностей ДНК, що фланкують мікросателітний повтор. Мікросателітні маркери Y-хромосоми дають змогу досліджувати «батьківську лінію», а аналіз мітохондріальної ДНК — жіночу, що використовують у філогенетичних дослідженнях. [119, 232].

Суть методу ISSR-ПЛР (Inter simple sequence repeats) полягає у використанні мікросателітних генів як ділянок відпалу праймерів. Результатом ISSR-ПЛР є мультигенні спектри ампліфікації, що розділяють у агарозному або поліакриламідному гелі (ISSR-фінгерпринтинг) [100, 246].

Методи ідентифікації ДНК-поліморфізмів неможливі без використання найсучасніших досягнень техніки та потребують наявності коштовного багатофункціонального обладнання та різноманітних матеріалів (табл. 1.2).

Таблиця 1.2

Деякі технологічні умови та характеристики методів виконання робіт з ДНК-діагностики.

Назва маркеру	Засоби для виконання				Характеристики виконання			
	Фермент рестрикції	ПЛР	Праймер	Гель	Підготовчі роботи	Роботи із визначення генотипів	Відтворюваність	Точність
RFPL	+	—	—	+	великі	великі	велика	дуже велика
PCR-RFLP	+	+	+	+	великі	середні	велика	дуже велика
RAPD	—	+	—	+	дуже малі	дуже малі	низька	дуже низька
AFLP	+	+	—	+	малі	дуже малі	велика	середня
SSCP	—	+	+	+	середні	середні	середня	середня
SNP	—	+	+	+	великі	змінні ¹	велика	дуже велика
Мікро-, мінісателіти	—	+	+	+	великі	малі	велика	велика

¹ Залежно від техніки виконання

1.2.3. Однонуклеотидні поліморфізми (SNPs) та методи їх ідентифікації.

Однонуклеотидні поліморфізми (поліморфізми одиничних нуклеотидів), SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) — це однонуклеотидні зміни в геномній ДНК, що виникають протягом видоутворення в популяціях та існують як різні алельні варіанти спадкової інформації. Частота присутності рецесивного алеля має становити не менше 1% [177]. SNPs не є новим типом ДНК–маркерів, найперші ПДРФ–маркери теж відносять до цього типу [107].

SNPs надзвичайно широко розповсюджені в геномі. Наприклад, нині у свиней виявлено понад 42000 SNPs [208]. SNPs дають можливість забезпечити надзвичайно велике перекриття із маркерами [177], а крім того, мають низький мутаційний рівень на покоління ($\sim 10^{-8}$) [85, 120, 200].

Існує багато методів детекції алельних варіантів SNPs, зупинимось на декількох з них. Алель–специфічна ПЛР. Алельні варіанти розрізняють за рахунок того, що нуклеотид одного з праймерів на 3' – кінці гібридизується безпосередньо з варіабельним нуклеотидом (позиція SNPs), що зумовлює наявність або відсутність ПЛР [199, 245].

Метод SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) — електрофорез денатурованих одноланцюгових продуктів ПЛР, що мають точкову мутацію. Нуклеотидна заміна в досліджуваних послідовностях веде до зміни заряду одноланцюгового фрагмента і як наслідок — до електрофоретичної рухливості і може бути визначена як поліморфний варіант. Для детекції однонуклеотидних замін у ПЛР-продуктах використовують методи електрофорезу в денатуруючих гелях з постійною концентрацією денатуруючого агенту [135] або з використанням градієнта температури [204].

Детекція на твердих мікропанелях (microarrays). Мікропанель являє собою твердий носій (скло, нейлон) невеликого розміру, на якому у відповідному порядку нанесені короткі олігонуклеотиди або фрагментами ДНК.

Прикріплення одного з компонентів реакції дає змогу одночасно проводити велику кількість реакцій і дозволяє застосовувати мікропанелі як для виявлення мутацій, так і для маркування вже відомих алелів [109, 143, 177].

Секвенування — найбільш точний метод визначення SNP, який проводять шляхом визначення нуклеотидної послідовності фрагменту ДНК, де знаходиться точкова мутація [173].

Серед великої кількості методів ідентифікації SNPs найбільш розповсюдженим є стандартний метод ПЛР-ПДРФ. Аналіз поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів, так званий ПЛР-ПДРФ аналіз (Restriction Fragment Length Polymorphism — RFLP analysis) має такі етапи: виділення геномної ДНК, її ампліфікацію зі специфічними праймерами, що фланкують одиничний поліморфізм, рестрикцію ампліфікату специфічною ендонуклеазою, електрофорез отриманих фрагментів ДНК та їх ідентифікацією за фореграмою [15, 35]. За відсутності рестрикції у поліморфних сайтах на електрофореграмах або радіоавтографах буде виявлятися один великий фрагмент, що відповідає довжині послідовності ДНК між двома сайтами асоціації праймерів. При наявності рестрикції за поліморфними генами на електрофореграмі будуть присутні фрагменти, довжина яких дорівнює відстані між поліморфним сайтом рестрикції і одним з найближчих константних сайтів асоціації праймерів. [15, 34, 35].

Метод ПЛР-ПДРФ широко використовується в генетичних дослідженнях популяцій, оскільки наявність у геномі досліджуваного організму рестрикційного фрагменту ДНК певної довжини є зручним генетичним маркером і одночасно фенотиповою ознакою, тісно пов'язаною з генотипом організму. Це дозволяє стежити за поширенням такого маркера в популяціях, передачею його від батьків до нащадків при схрещуваннях та можуть бути використані для побудови генетичних карт досліджуваних організмів класичними генетичними методами [107].

1.3. Гени господарськи корисних ознак (QTL) свиней

1.3.1 Деякі маркерні гени, що використовуються у свинарстві

Під час розведення свиней є можливість використання генетичних маркерів для збільшення продуктивності тварин за рахунок підбору тварин—носіїв бажаних генотипів за генами кількісних ознак та за генами кількісних ознак (*quantitative trait loci* – QTL).

Сучасний генетичний аналіз тварин здійснюється не від ознаки до гена, а навпаки — від нуклеотидних послідовностей до ознак. Мета такого аналізу полягає в тому, щоб ретельно картувати гени та гени, пов'язані із генами господарськи корисних ознак. Загалом QTL у свинарстві представлені 390 ознаками, серед яких п'ять основних типів представлено в таблиці 1.3.

Таблиця 1.3

Основні типи QTL свиней [208]

Тип ознаки	Стійкість до захворювань	Екстер'єр тварини	Репродуктивні якості	Параметри продуктивності	Якість м'яса
Кількість QTL	32	53	94	350	1871

Кількість відкритих генів, що відповідають за господарськи корисні ознаки, стрімко зростає. Велику кількість таких генів передусім пов'язано із наявністю високого міжпородного поліморфізму виду, процесами породоутворення, накопичення генетичного вантажу і т. ін. У таблиці 1.4 наведено розміщення вже дослідених QTL на хромосомах свиней [208].

Таблиця 1.4

Розподіл QTL за хромосомами.

Хромосома	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	X	Y
Кількість QTL	282	255	112	341	82	334	294	139	117	91	73	76	108	112	101	32	48	42	157	1

Одним із найбільш досліджених генів господарськи корисних ознак є ген гормону росту (*GH*). Даний QTL є прямим молекулярно-генетичним маркером, оскільки являє собою відповідний структурний ген соматотропіну

(гормону росту). Це поліфункціональний фактор, основна функція якого спрямована на стимуляцію росту та розвитку тварини [6].

Ген інсуліноподібного фактору росту (*IGF-2*). *IGF-2* бере участь в широкому спектрі метаболічних процесів в ембріональних тканинах і плаценті. Поліморфізм гена *IGF-2* зумовлений двома алелями — *q* і *Q*. Свині, що несуть у своєму генотипі бажаний генотип *QQ* гена *IGF-2*, відрізняються підвищеними середньодобовими приростами живої маси і м'ясності туш, меншою товщиною шпиків [220, 228].

Ріанодіновий рецептор (*Ryr-1*). Однією з проблем у свинарстві є чутливість свиней до стресів — «синдром злоякісної гіпертермії». Чутливість до злоякісної гіпертермії викликається точковою мутацією гена рецептора ріанодину *Ryr-1*. Були ідентифіковані генотипи свиней (*NN* — стресостійкі неносії; *Nn* — стресостійкі носії; *nn* — стресчутливі носії).

Серед генів, асоційованих з показниками відтворних функцій свиней, на сьогодні найбільш відомим є ген естрогенового рецептору (*ESR*). Поліморфізм цього гена зумовлений наявністю двох алелів — *A* і *B*, причому кращим з точки зору селекції є генотип *BB* [153].

PRLR (пролактин-рецептор) і *FSHB* (фолікулостимулюючий гормон β), також мають безпосередній вплив на репродуктивну функцію свиней. Так, свиноматки, у генотипі яких присутні домінантний алель *D* гена *PRLR* і алель *B* (рецесивний) гена *FSHB*, характеризуються підвищеними репродуктивними показниками [202, 203].

Відома низка генів, що контролюють м'ясну продуктивність свиней. Поліморфізм генів *MYF4* (міогенін фактор), *MYOD1* (фактор, що детермінує зростання м'ясопридатних тканин), *MC4R* (меланокортин рецептор), *C-Myc* (протоонкоген), впливають на показники живої маси свиней. Гени *MYF4*, *MYOD1* контролюють формування м'ясопридатних тканин протягом ембріонального розвитку, а *MC4R* — засвоєння поживних речовин, *C-Myc* пов'язаний зі швидкістю приросту живої маси та якістю м'яса. Тварини, які мають генотип *BB(PP)* меланокортин–рецептору *MC4R*, за показниками відгодівлі та м'ясної

продуктивності мають перевагу над аналогами із генотипом *AA(MM)*. Бажаним генотипом за геном *C-Мус* у свиней є комбінація алелів *AA*. Генотипами, що детермінують високу інтенсивність формування м'язової тканини у свиней є *BB(TT)* та *AA* відповідно за генами *MYF4* і *MYOD1* [213, 218].

Рендемент Наполі (*RN*). *Rendement Napole* знаходиться в одному гені і має два алелі, один з яких домінантна мутантна (RN^-), інша - рецесивна нормальна (rn^+). Дія домінантного алеля RN^- гена полягає в зниженні рівня рН м'яса при його дозріванні, що знижує його харчову цінність, білкову повноцінність, але знижує вологоємність. М'ясо таких тварин має більш низьку калорійність, більш сильний смак і запах і велику кислотність [156].

Рецептори *E. coli* F4 і F18 (*ECR F18/MUC4* і *ECR F18/FUT1*). Як генетичний маркер, що представляє практичний інтерес, розглядається ген рецептора *E. coli* F18 (*ECR F18/FUT1*). Поліморфізм гена зумовлений алелями *A* і *G*. Поросята, що мають генотип *GG*, чутливі до колібактеріозу, *AA* — стійкі. Аналогічна дія й для гена (*ECR F18/MUC4*). Поросята, що мають генотип *CC*, чутливі до колібактеріозу, *GG* — стійкі [182, 186].

1.3.2. Поліморфні гени *ECR F18/FUT1* та *ECR F4/MUC4*, що зумовлюють стійкість свиней до колібактеріозу.

Патогенні *E. coli*, що продукують F18 фімбрії зазвичай є причиною післявідлучної діареї поросят, що призводить до виснаження та загибелі тварин. Проте існують особини, більш стійкі до інфікування патогенною мікрофлорою [121, 144].

Для отримання генів-кандидатів *E. coli* F18 рецепторів гена (*ECF18R*) було створено 5 космід і один геномний клон, що містили ізольовані копії генів альфа-(1,2)-фукозилтрансферази, *FUT1* і *FUT2* із геномних бібліотек свині [182]. За допомогою аналізу характеристик відкритих рамок зчитування (OFR) клонів генів *FUT1* і *FUT2* виявлено, що вони розміщені в регіоні qll хромосоми 6 свині (SSC6qll). Порівнянням прямих послідовностей двох OFR

свиней як чутливих, так і стійких до адгезії та колонізації *E. coli* F18 (*ECF18R*) виявило поліморфізми в положеннях 307 п.н. (екзон 2) і 857 п.н. (інтрон 8) у послідовності гена *FUT1* (OFR) свині. Жоден поліморфізм, виявлений у *FUT2*, не підходить для диференціювання чутливих і стійких свиней [182, 186, 240].

Поліморфізм ДНК у свиней за геном альфа-(1,2)-фукозилтрансферази-1 (*FUT1*) дозволяє встановити генетичну відмінність стійких та чутливих до інфікування *E. coli* особин. [190, 191, 223–225].

Наявність з'язку мутації в гені *FUT1* із колібактеріозом поросят дозволила розробити молекулярний тест для ідентифікації гомозиготних стійких, гетерозиготних (носіїв) і гомозиготних чутливих свиней за здатністю до адгезії *E. coli* F18 на клітинній стінці ентероцитів. За допомогою такого діагностичного тесту з високою чутливістю й специфічністю можливо на генному рівні визначити наявність у генофонді свиней, схильних до набрякової хвороби і післявідлучної діареї [121, 150, 182, 186]. Присутність поліморфізму різна серед порід свиней [47, 105, 122, 227, 242, 244].

Ентеротоксичні *E. coli*, що утворюють фімбрії F4 (K88) найчастіше є тими бактеріями, що спричиняють діарею та смерть новонароджених та відлучених поросят [239]. *E. coli* із адгезивним антигеном F4 спричиняють у 71% випадків діарею новонароджених поросят [187]. Відомі три антигенних варіанти фімбрій F4 — F4ab, F4ac та F4ad [142]. Згідно з даними проведення аналізу зчеплень генів F4ab/F4ac було виявлено повну відповідність їх гаплотипів гаплотипу сіалоглікопротеїну муцину 4 (*MUC4*) [97, 142, 170].

Ген, що контролює експресію муцину 4, розміщується на хромосомі 13 у регіоні q41 (SSC13q41) [133]. Одним із перших виявлено мононуклеотидний поліморфізм у позиції 1849 п.н., що відповідає інтрону 7 послідовності гена [159, 241]. Наявність точкового поліморфізму (SNP) утворює сайт рестрикції для ендонуклеази *Xba*I, що відповідає генотипу, що відповідає за стійкість до колібактеріозу. Одиначна мутація гена *MUC4*, при якій цитозин (C) змінюється на гуанін (G) у позиції 1849 п.н. (*G*→*C*), що кодує

мембранний поліглікопротеїн муцин 4, що створює захисний шар слизу клітин кішківника свиней, є господарськи корисною [166–168]. Позитивні результати щодо збереженості та життєздатності поросят отримані при схрещуванні батьківських форм, що несли своєму генотипі бажаний алель гена *MUC4* [45, 169, 222, 227].

1.4. Колібактеріоз та набрякова хвороба свиней.

Кожного року у світі більше 10 млн. поросят гинуть від набрякової хвороби та післявідлучної діареї. Ці захворювання асоційовані із адгезією ентеротоксичних *Escherichia coli* на поверхні клітин кишківника поросят мають назву колібактеріоз [9, 29].

Набрякова хвороба (*Morbus oedematosus*; колібактеріоз, коліінфекція, колієнтеротоксемія, колідіарея, ешерихіоз та ін.) - інфекційне захворювання поросят перших двох тижнів життя, післявідлучного й трохи старшого віку, що має гострий перебіг. Звичайно захворюють поросята кращої вгодованості [56, 82].

Хвороба характеризується появою нервових явищ, діареєю, набряками в різних органах і тканинах, запаленням травного тракту, а також виникненням дистрофічних змін у паренхіматозних органах, частіше в печінці [56, 82, 239].

Збудник хвороби — ентеропатогенні гемолітичні штами кишкової палички роду *Eschenchia* (*E. coli*). Патогенність збудника цього захворювання зумовлюється можливістю продукувати специфічні адгезини — фактори прикріплення (фібрилярні антигени) до відповідних рецепторів ентероцитів тонкої кишки. Надалі виділяються токсини, що пригнічують рідинопоглинаючу діяльність епітеліальних клітин кишківника, що призводить до розвитку діареї. Зі специфічних адгезинов при колібактеріозі поросят найбільш важливу роль грають F18 і F4 (K 88). В основі генетичної стійкості поросят до діареї лежить відсутність на поверхні клітин кишківника таких тварин відповідних рецепторів [116, 142, 150].

Джерелом збудника є хворі та перехворілі на набрякову хворобу підсвинки, а також свині–бактеріоносії ентеропатогенних ешерихій. Збільшення проникності судин кишечника полегшує проникнення токсичних речовин з кишечника до крові, викликаючи інтоксикацію організму. [56, 82].

Хвороба може протікати надгостро — від кількох годин до 2 днів, гостро — 3–4 і підгостро — 10 днів. Головними клінічними ознаками хвороби у поросят до місячного віку є підвищення температури, пригнічений стан, порушення функції травного тракту, зневоднення тіла (ексікоз), схуднення. Хвороба закінчується смертю у 30–80 %. Економічний збиток складається з витрат на лікування хворих тварин, специфічної профілактики хвороби, недоотримання продукції в результаті падежу поросят і подальшого зниження продуктивності (до 30%) у перехворілих тварин [56, 82, 150].

Лікування та профілактика колібактеріозу ускладнені двома основними чинниками: широким різноманіттям властивостей і множинною стійкістю збудника до різних антибактеріальних препаратів, а також недостатньою вивченістю молекулярно–генетичних структур бактерій, відповідальних за їх патогенні та імуногенні властивості [116, 160, 190]. Тому практичний інтерес для свинарства має вивчення можливості застосування в селекційному процесі поліморфізму генів рецепторів *E. coli* F18 та F4 (*ECR F18/FUT1* та *ECR F4/MUC4*), пов'язаних із виникненням колібактеріозу в поросят перших двох місяців життя і в післявідлучний період, у якості маркерів для створення резистентних до зазначеного захворювання популяцій свиней [166–168, 182, 186].

Базуючись на аналізі наведених вище робіт, ми підтверджуємо актуальність проведення досліджень популяцій свиней за допомогою маркер-залежної селекції із використанням генів господарськи корисних ознак. Дійсні дослідження присвячені комплексному вивченню генів *ECR F18/FUT1* та *ECR F4/MUC4* на рівні генетико–популяційної оцінки генофонду закритої популяції свиней і на рівні показників збереженості поросят подальшої продуктивності тварин, що мають різні генотипи досліджуваних генів.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Постановка проблеми

Ріст і розвиток поросят у ранній постнатальний період суттєво впливає на подальше формування здорового і продуктивного поголів'я свиней. Організм новонароджених поросят недостатньо пристосований до умов навколишнього середовища й найбільш чутливий до впливу несприятливих факторів, таких як: вплив бактеріальної асоціації зовнішнього середовища, реактивність організму поросяти, біологічна повноцінність і безпека кормів, гігієнічні умови приміщення, у якому перебуває тварина, кваліфікація обслуговуючого персоналу й багато іншого. Однак основна роль у виникненні гострих захворювань належить інфекційному фактору, представленому, як правило, асоціаціями різних мікроорганізмів.

Шлунково-кишкові інфекції новонароджених поросят є однією з найбільш гострих проблем свинарства, так як вони мають широке поширення, особливо у великих господарствах, і завдають великої економічної шкоди [9]. Численними дослідженнями, проведеними в нашій країні і за кордоном, встановлено, що виникнення зумовлене впливом на новонароджених тварин різноманітних етіологічних і супутніх факторів. Масові захворювання поросят із комплексом симптомів діареї в ранньому постнатальному періоді проявляються як змішані (асоційовані) бактеріальні або вірусно-бактеріальні інфекції, що відрізняються особливо злоякісним перебігом, які важко діагностуються, оскільки вторинна бактеріальна інфекція «маскує» первинні вірусні або бактерійні захворювання [82].

Незважаючи на значне скорочення поголів'я свиней в Україні, актуальність інфекційних хвороб у свинарстві не зникла. У переліку

проблемних патологій як і раніше залишається колібактеріоз поросят, на частку якого припадає близько 10 % втрат свиней від інфекційних хвороб. А перехворілі особини до 30 % знижують продуктивність на відгодівлі [9, 56].

Застосовування на практиці антибіотиків та інших засобів лікування й профілактики шлунково-кишкових інфекцій у більшості своїй малоефективні й екологічно небезпечні у зв'язку з утворенням антибіотикостійких штамів і зниженням загальної реактивності організму тварин. Екологічна безпечність свинини напряму залежить від використання синтетичних стимуляторів росту, антибіотиків, антиоксидантів хімічного походження й інших препаратів, які добре доступні на кормовому ринку України. Незастосування вказаних препаратів може знизити ефективність технології виробництва свинини й зробити галузь нерентабельною.

Однак слід особливо відзначити, що до теперішнього часу при шлунково-кишкових інфекціях свиней не розроблені достатньо ефективні системи контролю епізоотологічного процесу на великих комплексах і спеціалізованих фермах з вирощування поросят, що негативно позначається на збереженні молодняка. Тому стає зрозуміло, що застосування одних симптоматичних методів терапії при шлунково-кишковій патології для розриву епізоотологічного ланцюга виявляється недостатнім. У сучасних умовах альтернативою може стати проведення ДНК-досліджень у популяціях тварин за генами стійкості до інфекційних хвороб різної етіології.

Практика зоотехнії показує, що традиційних санітарно-ветеринарних заходів у боротьбі з інфекційними хворобами тварин недостатньо. Тому практичний інтерес представляє вивчення можливості застосування в процесі розведення свиней поліморфізму генів *FUT1* і *MUC4*, пов'язаних з виникненням колібактеріозу у поросят перших двох місяців життя і в післявідлучний період, що дозволить проводити специфічну

профілактику спалахів даного захворювання шляхом проведення селекційних заходів, спрямованих на підвищення їх генетичної стійкості [168, 225].

Відомо, що збудниками набрякової хвороби та післявідлучної діареї є кишкові палички *E. coli* із поверхневими структурами типу *F4* та *F18* відповідно [167, 182]. Потрапляючи до кишківника поросяти, ентеропатогенні бактерії, за наявності факторів адгезії або відсутності блокуючих та конкурентних сполук, прикріплюються до ентероцитів, тим самим безпосередньо спричиняючи токсичну дію. При цьому клітини кишківника інтенсивно виділяють рідину із токсикантами, внаслідок чого і виникає діарея, що призводить до загального виснаження організму та врешті колапсу [9, 56].

Факторами, що детермінують адгезію *E. coli F4* та *F18* є сіалоглікопротеїн слизу муцин 4 (*MUC4*) та фукозилуючий фермент α -фукозилтрансфераза-1 (*FUT1*). Поліморфізм нуклеотидних послідовностей генів *MUC4* та *FUT1* зі свого боку впливає на якість кінцевих функціональних продуктів. Трансверсія G→C у позиції 1849 п.н. гена *MUC4* призводить до синтезу муцину 4, що не адсорбує патогенні *E. coli*. Транзиція G→A у позиції 307 п.н. гена *FUT1*, призводить до надсинтезу α -фукозилтрансферази-1, що за рахунок своєї дії унеможливорює приєднання бактерій до клітин кишківника [9, 56, 170, 224].

Виходячи із вищезазначеного, розуміємо, що проблема є досить складною та актуальною для сучасного свинарства. Тому ця робота й присвячена вивченню структур генофонду за поліморфними генами α -фукозилтрансферази-1 і муцину 4 та їх взаємозв'язку із продуктивними якостями поголів'я свиней селекції Дніпропетровського СГІ, що декілька десятиліть розводиться «у собі», а також заселеністю кишківника патогенними *E. coli* у поросят із різними генотипами за досліджуваними генами.

2.2. Об'єкти та методи, що використані у роботі

Дослідження за темою дисертаційної роботи проводили впродовж 2010–2012 років на базі племінного репродуктору свиней української м'ясної породи СТОВ «Луговське» фірми «Авіас2000» Солонянського району Дніпропетровської області.

Матеріалом для досліджень слугувала популяція свиней селекції Дніпропетровського СГІ, які розводяться впродовж декількох десятиліть «у собі». Популяція цих свиней являє собою високопродуктивну, добре адаптовану до умов центральної частини степу України, консолідовану за типом і продуктивністю групу тварин. Структура її містить три генеалогічні лінії та чотири родини [79–81].

Дійсна робота являє собою комплексне вивчення продуктивних показників поголів'я в залежності від поліморфізму двох генів, асоційованих із стійкістю свиней до колібактеріозу. Особливу увагу приділено росту та розвитку підсисних та відлучених поросят, оскільки хвороба вражає саме цю вікову групу свиней. Дослідження організовані з метою вивчення впливу різних алелів і генотипів генів *ECR F18/FUT1* і *ECR F4/MUC4* на продуктивні якості свиней у закритій популяції селекції ДСГІ, а також для аналізу можливості проведення та організації маркер-залежної селекції в стаді, спрямованої на створення тварин, генетично стійких до колібактеріозу.

Для виконання цілей роботи й вирішення проблеми, сформульованої в ній, були розроблені програма й методика досліджень, які містили в собі як традиційні зоотехнічні методи вивчення селекційного матеріалу, так і методи генетичної оцінки тварин генофонду популяції і різних її структур за молекулярно-генетичним маркером ДНК, представлених поліморфними генами *FUT1* і *MUC4*, а також мікробіологічні дослідження, спрямовані на диференціації поросят за заселеністю їх кишківника патогенними *E. coli*.

Оцінку ефективності використання свиней різних генотипів і різних схем схрещування проводили за загальноприйнятими методиками з використанням контрольних відгодівлі та вирощування [41].

Умови годівлі та утримання тварин були ідентичні для всіх груп тварин і відповідали зоотехнічним нормам з урахуванням віку, живої маси та фізіологічного стану. Тип годівлі — помірно-концентратний з використанням кормів власного виробництва.

Загальну схему досліджень представлено на рисунку 2.1.

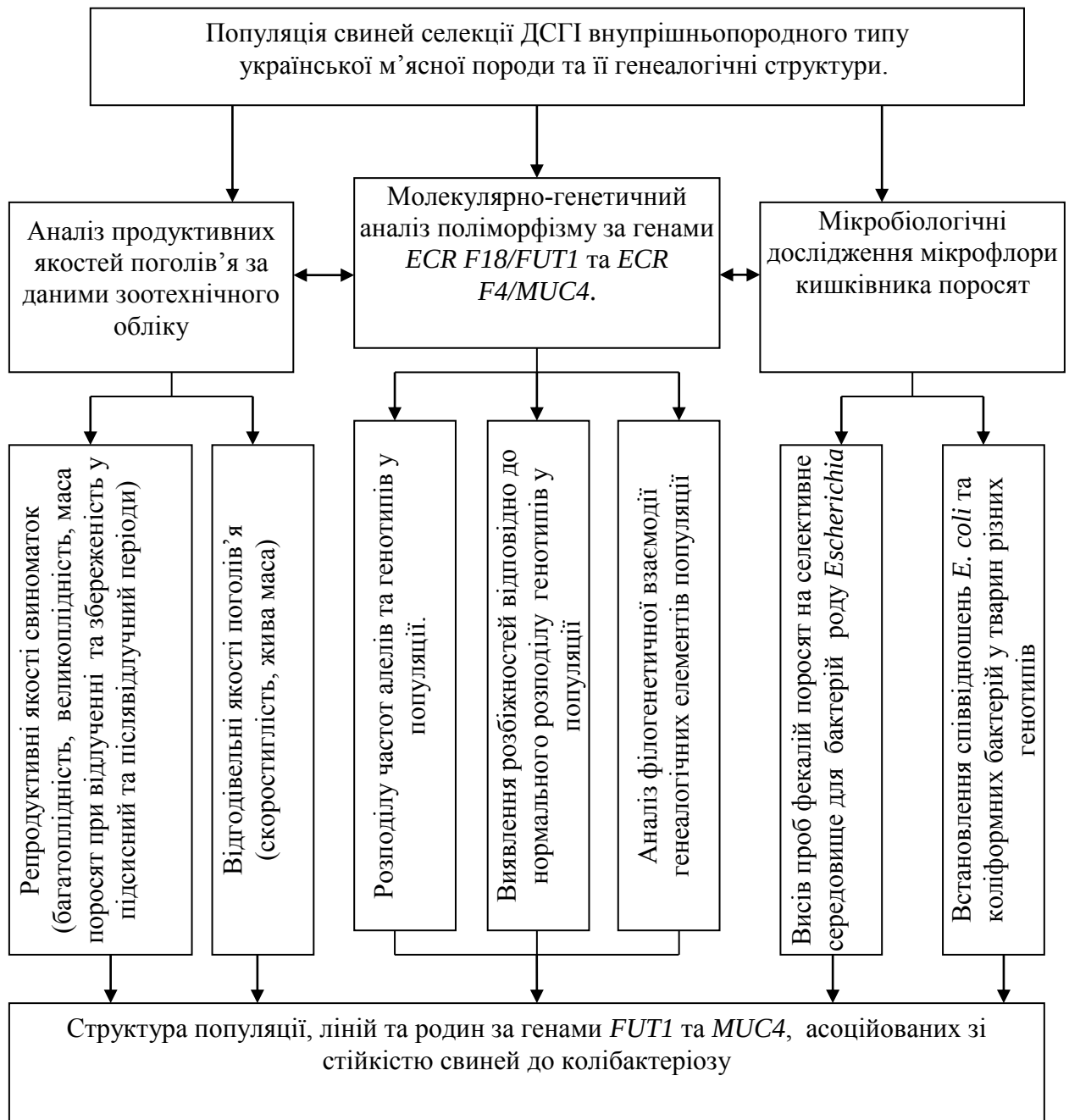


Рис.2.1. Схема досліджень

2.3. Характеристика популяції свиней селекції ДСГІ

У Дніпропетровській області на початок 70-х років ХХ ст. була сформована популяція свиней, оригінальна за історією створення її генофонду, що підтверджено оцінкою за еритроцитарними антигенами та молекулярно-генетичними маркерами, а також тим, що за фенотипом відрізняється від інших порід і популяцій свиней, що розводяться в Україні.

Головною особливістю вказаної групи тварин є те, що впродовж створення вони розводились «у собі» у відносно невеликому поголів'ї (50–100 основних маток). На різних історичних етапах формування племінна частина популяції розміщувалась у совгоспі «Краснопільський» (1946–1980 р.р.), навчоспі «Самарський» Дніпропетровського агроуніверситету (1978–2002 рр.) та СТОВ «Луговське» (2002–2012 р.р.).

З 1946 по 1965 відбувалося формування основного поголів'я на двопородній основі (велика біла порода х беркшири). У 1965 році було проведено «прилиття крові» породи ландрас, після чого розведення «у собі» було продовжено, але вже на трипородній основі.

Ця група тварин визначена як складова частина української м'ясної породи свиней, хоча, враховуючи викладене вище, вона є цілком самостійною популяцією із ознаками локальної [79, 83].

Селекційну роботу зі створення цієї групи свиней очолив і почав професор М.О. Селех в 1946 році [75, 76].

У багаторічній роботі над цією популяцією можна виділити такі етапи: 1946–1980 роки. М.О. Селех із співробітниками створили на основі трипородного схрещування і розведення помісей «у собі» високопродуктивну, добре пристосовану до умов центральної частини степу України групу свиней селекції ДСГІ. У цей період також вивчались продуктивні якості дво- і трипородних тварин цієї групи при різних варіантах розведення [75, 76, 84].

1980–1990 роки. В.І. Сокрут, В.Т. Сметанін, С.П. Безенко і В.І. Северин, вивчивши генофонд популяції за еритроцитарними антигенами груп крові, встановили його оригінальність за декількома генами щодо великої білої та інших порід. В.Т. Сметаніним встановлена висока ефективність схрещування маток великої білої породи з кнурами селекції ДСГІ [76, 83].

1990–2000 роки. В.Т. Сметанін, О.В. Хмельова створюють материнську форму (лінію) з високими репродуктивними і адаптаційними якостями, з консолідованим генофондом, відмінним від батьківської лінії. Вивчають і встановлюють результати гібридизації названих форм (ліній) [79].

2000–2004 роки. В.Т. Сметанін, Е.Е. Антонов, О.В. Драган, А.І. Кузьменко продовжують комплексне вивчення продуктивності й генофонду популяції та різних її структур. Проведено формування помісного масиву свиней на міжпопуляційній основі — харківського заводського типу і тварин селекції ДСГІ [77, 80].

2005–2012 роки. В.Т. Сметанін, Л.В. Кунєва і Г.І. Сировнєв продовжують формувати структуру генофонду племінного репродуктора «Луговське». Поголів'я основних свиноматок складає 184 голови, вивчається генофонд цього стада за маркерами ядерної та мітохондріальної ДНК. Сформовано основу інбредних ліній свиней, одержано шість поколінь при кровозміщенні (20 свиноматок), вивчаються можливості використання цих тварин у внутрішньопопуляційних схемах розведення [78, 81].

Популяція свиней являє собою високопродуктивну, добре адаптовану до умов центральної частини степу України, консолідовану за типом і продуктивністю групу тварин. Досліджувана популяція розводиться в кількох господарствах Дніпропетровської області. На цей час племінне стадо тварин зазначеної селекції представлено репродуктором СТОВ «Луговське» Солонянського району, поголів'я в яких становить близько 8000 свиней, включаючи 184 основні свиноматки.

Структура популяції містить три генеалогічні лінії та чотири родини. Виділено також батьківську й материнську лінії, марковані за генотипами декількох генів еритроцитарних антигенів, що є альтернативними між собою за алелями цих генів [81, 83].

За формальною кровністю популяція представлена великою білою породою на 70–80 %, беркширами та ландрасами — 2–20 %, а тестування тварин за мітохондріальною ДНК виявило 67 % гаплотипів, характерних для породи мейшан/великої білої, близько 15 % — беркшир, 7 % — ландрас та 11 % інших порід, не зазначених у доступній історії формування популяції (дюрок, гемпшир, уельс і мангалиця) [69].

Свині селекції Дніпропетровського СГІ являють собою досить великих тварин з розтягнутою середньою частиною тулуба. Вони мають довгу рівну широку спину, добре розвинену задню третину тулуба й міцний кістяк [68].

Тривале розведення свиней зазначеної популяції «у собі» зумовило виникнення питання про збереження в стаді генетичної мінливості без зниження продуктивності тварин. Для цього була розроблена система роздільної селекції найбільш продуктивної частини генеалогічних ліній, яка дозволила за спеціально організованою схемою підборів досягти високої життєздатності (вік господарського використання свиноматок 6 і більше опоросів), продуктивності (багатоплідність 11 і більше поросят, скоростиглість 170 днів, оплата корму за всім стадом із урахуванням свиноматок і плідників 4,6 г.од.) і забезпечити отримання високопродуктивних особин у товарній частині стада [78, 81].

2.4 Обладнання

1. Ампліфікатор (термоциклер) ТП4-ПЦР-01 «Терцик» з допустимим відхиленням температури від встановленого значення не більше ніж $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ та градієнтом температури не більше ніж 1°C/s .

2. Твердотільний термостат типу «Dray-block» з налаштуванням температури до $95^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
3. Мікроцентрифуга до 14000 об/хв. для пробірок на 1,5 мл, «Eppendorf»
4. Бокс абактеріального повітряного середовища 2-го кл. захисту, БАВп-01-«Ламінар-С»-1,5.
5. Термостат «ТС – 80М-2» з налаштуванням температури до 60°C .
6. Мікрострушувач типу «Vortex».
7. Пробірки пластикові одноразові для ПЛР ємністю 0,2–0,5 мл відповідно до ДСТУ ISO 9001, «Axygen», «Eppendorf».
8. Дозатори автоматичні змінного об'єму від 0,5 до 200 мкл відповідно до ДСТУ ISO 9001, «Eppendorf» (Німеччина).
9. Одноразові наконечники для ПЛР ємністю 0,2–1,0 мл відповідно до ДСТУ ISO 9001, наприклад, «Axygen», «Eppendorf».
10. Трансілюмінатор «Bio-Rad».
11. Камера для горизонтального гель-електрофорезу.
12. Фотокамера «Canon» для фотодокументації результатів.
13. Джерело постійного струму $300 \pm 10\text{В}$), «Эльф-4».
14. Морозильна камера до -20°C , «Позис».
15. Холодильна камера $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$, «Indezit».
16. Ваги до 202 г, «AND».
17. Ваги технічні ТЦР.
18. Магнітна мішалка MSH-10.
19. Лабораторний посуд (колби 25–1000 мл, пробірки 5–50 мл, мірні стакани об'ємом 25–1000 мл).

2.5. Методика визначення генотипів свиней за генами *FUT1* та *MUC4*

Для оцінки генетичних особливостей свиней селекції ДСГІ за молекулярно-генетичними маркерами за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПЛР-ПДРФ).

Дослідження ДНК тварин проводили в лабораторії генетики Інституту свинарства і АПВ НААН (Статус лабораторії генетичного контролю № 2163 МінАПК України)

2.5.1 Відбір зразків біологічного матеріалу

Кров для дослідження відбирали із вушної вени, використовуючи одноразові системи для взяття крові, одноразовою голкою в об'ємі 2–3 мл у стерильну пробірку із антикоагулянтом (6% розчин ЕДТА у співвідношенні 1:19 або 4% розчин цитрату натрію у співвідношенні 1:9). Закриту пробірку із кров'ю кілька разів струшували для рівномірного змішування з антикоагулянтом. На пробірки наносили відповідні записи для подальшої ідентифікації зразків. Пробірки транспортували у той же день у термоконтейнерах при температурі 5 ± 3 °C до лабораторії. У лабораторії вміст пробірок висушували на стерильній марлевій тканині впродовж 1 доби у полі ламінарного потоку повітря. Висушені зразки переносили у стерильні пакети типу «Zip-lock». На пакети наносили відповідні записи для подальшої ідентифікації зразків.

Щетину відбирали з холки тварин за допомогою пінцету у стерильні пакети типу «Zip-lock». На пакети наносили відповідні записи для подальшої ідентифікації зразків.

Отримані зразки до моменту проведенні досліджень зберігали у холодильнику при температурі 5 ± 3 °C. Транспортування здійснювали у термоконтейнерах при температурі 5 ± 3 °C.

2.5.2 Виділення ДНК із крові тварин за допомогою Chelex-100.

Для виділення ДНК із біопроб за допомогою іонообмінної смоли Chelex-100 [CAS: 68954-42-7 Chelex-100] готують 5% робочий розчин цього реагенту. До мірної колби об'ємом 100 мл вносять 5 г Chelex-100 і додають дистильованої води до об'єму 100 мл. В одноразові поліпропіленові пробірки

Erpendorf об'ємом 1,5 мл вносять 1000 мкл стерильної дистильованої води. До пробірок додають проби, об'ємом не більше 200 мкл. Суміш інкубують 15 хв. при температурі 18–25°C. Пробірки центрифугують 1 хв. на швидкості 8 тис. об/хв. Після відокремлення осаду обережно видаляють надосадову рідину, залишаючи близько 20 мкл рідини над осадом. Центрифугування зразку проводять декілька разів до повного знебарвлення осаду. До пробірок додають 180 мкл 5% стерильного водного розчину Chelex-100 та інкубують протягом 30 хв. при 56 °C на термостаті. Потім вміст пробірки перемішують на мікрострушувачі та центрифугують 1 хв. на швидкості 8 тис. об/хв. Для ампліфікації використовують 5 мкл надосадової рідини, що містить ДНК. Розчину виділеної ДНК достатньо для проведення 20–100 ампліфікацій. Зберігати зразки при мінус 20 °C впродовж 6 місяців. Після кожного розморожування зразки струшують та центрифугують 5 хв. на швидкості 6 тис. об/хв.

2.5.3. Проведення ПЛР-ПДРФ аналізу

Ген-спецефічну ампліфікацію проводять за такою загальною схемою. У пробірках Erpendorf об'ємом 0,5 мл готують реакційну суміш (25 мкл) такого складу:

- 2,5 мкл універсального 10х ПЛР буферу,
- 1 мкл прямого F-праймера (5 мкМ),
- 1 мкл зворотного R-праймера (5мкМ),
- 0,1 мкл (5 од. акт.) Taq-полімерази,
- 19,4 деіонізованої води
- 1 мкл ДНК-матриці.

Синтез праймерів здійснено на базі науково-виробничої фірми «Литех», (Росія). ПЛР проводили у стандартній реакційній суміші (Tarotili, Росія) в ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технология», Росія) за програмою для генів *MUC4* та *FUT1*:

початкова денатурація — 94°C – 5 хв.;

35 циклів:

денатурація — 94°C – 40 с;

випал праймерів — 60°C – 40 с;

синтез ділянки — 72°C – 60 с;

термінальна елонгація — 72°C – 5 хв.

Структура праймерів [116, 169] :

FUT1 — F : 5'-CCAACGCCTCCGATTCCTGT-3',

FUT1 — R : 5'-GTGCATGGCAGGCTGGATGA-3'.

MUC4 — F : 5'-GTGCCTTGGGTGAGAGGTTA-3',

MUC4 — R: 5'-CACTCTGCCGTTCTCTTTCC-3'.

У результаті ПЛР синтезується фрагмент гена *FUT1* розміром 161 п.н., який гідролізували ендонуклеазами *HinPI* і *HgaI*, та фрагмент гена *MUC4* розміром 367 п.н., який гідролізували ендонуклеазою *XbaI* в умовах, рекомендованих фірмою «Fermentas», Литва. (див. табл. 2.1). Реакцію проводили у термоциклері «Терцик-2» (ДНК-технологія, Росія).

Таблиця 2.1

Фрагменти рестрикції та відповідні їм генотипи за досліджуваними генами

Ген/ендонуклеаза рестрикції	Генотипи і відповідні фрагменти рестрикції у п.н.		
<i>FUT1/ HinPI(HspAI)</i>	A/A: 161	G/A:161, 117, 44	G/G: 117, 44
<i>FUT1/ HgaI</i>	A/A: 125, 36	G/A:161, 125, 36	G/G: 161
<i>MUC4/ XbaI</i>	G/G: 367	G/C:367, 216, 151	C/C: 216, 151

Рестрикційний гідроліз ампліфікованих фрагментів здійснюють за такою схемою. Реакційна суміш (25 мкл) містить 10х рестрикційний буфер (оптимізований для певного ферменту) — 2,5 мкл, ендонуклеази рестрикції — 0,2 мкл (4–5 од. акт.), 15 мкл ПЛР-продукту та деіонізованої води — 7,3 мкл.

2.5.4. Електрофорез продуктів рестрикції.

Електрофорез продуктів рестрикції здійснювали у 8 % поліакриламідному гелі на тріс-боратному електрофорезному буфері (ТВЕ: 0,0879 М тріс, 0,089 М борна кислота, 0,002 М ЕДТА, рН 8,0. Для нанесення зразків на гель використовували буфер такого складу: 0,25 % бромфеніловий синій, 0,25 % ксиленціанол, 30 % гліцерин. Електрофорез проводили впродовж 1,5–2 годин за різниці потенціалів у гелі 2 В/см. Фарбування гелю здійснювали розчином етидію броміду (0,5 мкг/мл) протягом 10 хв. із наступною їх багаторазовою промивкою у дистильованою водою. Візуалізацію фрагментів ДНК проводили на УФ-світлі за довжини хвиль 450 нм. Електрофореграми фотографували із використанням жовтого світлофільтру.

2.6. Мікробіологічне дослідження клінічного матеріалу

Для визначення мікробної заселеності кишківника поросят *E. coli* використовували готове селективне середовище Comract Dry EC, сертифіковане за ISO 9001, затверджене як експрес-метод АООС (сертифікат № 110402) та MicroVal (сертифікат № 0806-005LR). Середовище міститься в полімерних чашках Петрі площею 20 см² та має такий склад:

Пептон — 15,0 мг; дріжджовий екстракт — 5,0 мг; натрію хлорид - 5,0 мг; натрію дифосфат — 2,0 мг; калію нітрат — 1,0 мг; натрію піруват — 1,0 мг; натрію дезоксихолат - 0,6 мг; натрію холат — 0,4 мг; L-триптофан — 1,0 мг; Magenta-GAL — 0,3 мг; X-Glu — 0,3 мг; ксантангам — 18,4 мг; гідроксипропіл целюлоза — 1,0 мг; натрію лаурил сульфат — 0,15 мг.

Дослідження проводили із такою послідовністю дій.

Перший день. Для засіву брали 1 г зразку посліду та розводили в 1:10⁶ стерильному фізіологічному розчині хлориду натрію. Розведення кожного

зразку в кількості 1 мл висівали на 3 чашки відповідно. Закриті чашки інкубували у термостаті впродовж 24 годин при температурі 37 ° С.

Другий день. Вивчали ріст колоній на середовищі після інкубації. *E. coli* формує на цій середовищі блакитні колонії. Червоні і блакитні разом складають при підрахунку загальної кількості колоній групи коліформ. (*E.coli* O157 формує рожеві або червоні колонії). Зростання Грам (+) бактерій повністю пригнічується.

Для зручності при підрахунку колоній зворотна сторона чашки має розмітку (розбита на клітини 1x1 см). У разі труднощів при обчисленні за великого числа колоній підраховували кількість колоній в одній клітинці і множили на 20 (загальне число клітин), таким чином отримували кількість на чашці.

2.7. Методи статистичної обробки результатів

При аналізі генетичної структури груп тварин за дослідженими генами визначали генну частоту алелів та генотипів, рівнів очікуваної та фактичної гетерозиготності, проводилися визначення генної рівноваги, побудова діаграм генетичної рівноваги та кластерний аналіз за філогенетичними зв'язками генеалогічних елементів.

Статистичну вірогідність отриманих результатів обчислювали методами математичної статистики та біометрії за критеріями χ^2 , Ст'юдента, Фішера [64, 25, 78, 105] з використанням стандартних комп'ютерних програм «Statistica 10.0», «MEGA 5.0» [88, 215].

Основні формули, використані для обчислення базових генетико–популяційних характеристик, наведено нижче.

Для розрахунку генної частоти за відсутності домінування використовували таку формулу:

$$P_i = \frac{2n_{ii} + n_{12} + n_{13} + n_1(k-1)}{2n}, \quad (2.1)$$

де n_{ii} – кількість гомозиготних особин за одним з алелів, n_{12} , n_{13} – кількість гетерозиготних тварин, n – загальна кількість тварин, досліджених за цим геном;

Стандартну похибку для частот алеля P_i обчислюють за формулою:

$$S_p = \frac{\sqrt{P_i(1-P_i)}}{2n}, \quad (2.2)$$

Достовірність різниці частот алелів серед різних популяцій тварин, що досліджуються, розраховували за методом Фішера:

$$F_\phi = (\phi_1 - \phi_2)^2 \frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}, \quad (2.3)$$

Де n_1 та n_2 об'єми груп, що порівнюються, а $\phi = 2 \frac{\pi}{180} \arcsin \sqrt{P}$, де

P — частота алеля.

За допомогою критерію Пірсона розраховували достовірність відхилення очікуваних співвідношень розподілу генотипів від тих, ої спостерігаються:

$$\chi^2 = \sum_i^n \frac{(F_i' - F_i)^2}{F_i'}, \quad (2.4)$$

де F_i' , F_i — очікувана та спостережена кількість особин з i генотипом, n — кількість генотипів.

При характеристиці рівня генетичної мінливості ми використовували показники спостереженої гетерозиготності:

$$H_o = \frac{1}{n} \sum_j^n h_j, \quad (2.5)$$

де h_j — кількість гетерозигот на об'єм вибірки, усереднена за всіма досліджуваними генами (n);

Очікувана гетерозиготність:

$$H_E = \frac{1}{n} \sum_j^n \left(1 - \sum_i^k P_{ij}^2 \right), \quad (2.6)$$

де n — кількість досліджених генів, P_{ij} — частота i -го алелю, k — кількість алелів у j гені.

Генетичні дистанції розраховували за формулою Нея.

$$D = -\ln \left(\frac{\sum_1^i a_i b_i}{\sqrt{\sum_1^i a_i^2 \sum_1^i b_i^2}} \right), \quad (2.7)$$

де a_i, b_i — частоти i -го алеля в популяціях, що порівнюються; i - кількість алелів.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Оптимізація методу ПЛР-ПДФР для визначення поліморфізму генів *FUT1* та *MUC4*

Шляхом підбору умов ампліфікації відповідних фрагментів генів, що вивчалися, та визначення особливостей електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації й рестрикції оптимізовано методику визначення генотипів свиней за генами *FUT1* та *MUC4*. Структура праймерів, ендонуклеази рестрикції, фрагменти рестрикції ампліконів та відповідні їм генотипи тварин наведені у таблиці 3.1. Також була дещо змінена програма ампліфікації, представлена в роботах [159, 182], її наведено в розділі 2 «Метеріали та методи досліджень».

Таблиця 3.1

Дизайн праймерів, ендонуклеази рестрикції, фрагменти рестрикції та відповідні генотипи тварин

Ген	Праймери	Ендонуклеаза рестрикції	Генотипи та відповідні фрагменти рестрикції, п.н.		
<i>FUT1</i>	F: 5'-CCAACGCCTCCGATTCCTGT -3' R: 5'-GTGCATGGCAGGCTGGATGA-3'	<i>HspAI</i> (<i>HinPI</i>)	AA: 161	AG: 161, 117, 44	GG: 117, 44
		<i>HgaI</i>	AA: 125, 36	AG: 161, 125, 36	GG: 161
<i>MUC4</i>	F: 5'-GTGCCTTGGGTGAGAGGTTA-3' R: 5' -CACTCTGCCGTTCTCTTTCC-3'	<i>XbaI</i>	GG: 367	GC: 367, 216, 151	CC: 216, 151

На рисунках 5-7 представлено електрофореграми фрагментів ампліфікації генів та отриманих продуктів рестрикції, які відповідають різним генотипам за генами *FUT1* та *MUC4*.

Згідно з результатами ПЛР-ПДФР аналізу поліморфних ділянок досліджуваних генів при розділенні після ПЛР ампліконів гена *FUT1* за допомогою рестриктази *HgaI* і *HspAI* та гена *MUC4* рестриктазою *XbaI* отримано всі можливі варіанти фрагментів рестрикції.

Результат рестрикційного аналізу ампліфікованого фрагмента гена *FUT1* за допомогою ферменту *HgaI* надано на рисунку 3.1. На доріжці 1 присутня одна смуга, що відповідає генотипу GG чутливих до колібактеріозу свиней, який відповідає стійкій до колібактеріозу тварині. Три смуги на доріжці 2 фореграми відповідають генотипу AG. На доріжці 3 дві смуги відповідають стійким до захворювання свиням із генотипом AA.

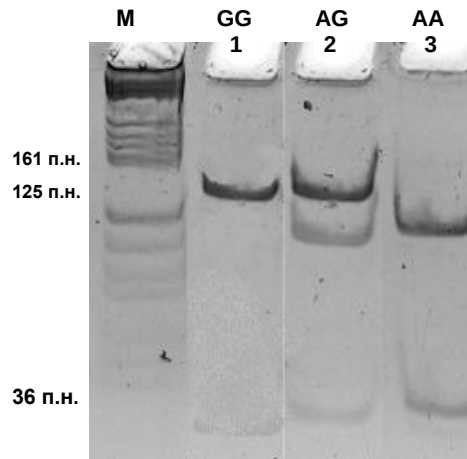


Рис.3.1. Електрофорез у 8 % поліакриламідному гелі продуктів *HgaI*-рестрикції фрагмента гена *FUT1* ампліфікованого у ПЛР.

М – маркер молекулярної маси (pBR322/BsuRI), 1-3 – ДНК свиней.

Результат рестрикційного аналізу ампліфікованого фрагмента гена *FUT1* за допомогою ферменту *HspAI* надано на рисунку 3.2. На доріжках 1,2 при розщепленні послідовності *FUT1* рестриктазою *HspAI* виявлені варіанти генотипів (GG та GA), чутливих та схильних до колібактеріозу свиней. Фермент *HspAI* не гідролізує ДНК свиней із генотипом AA, що представлено на доріжці 3.

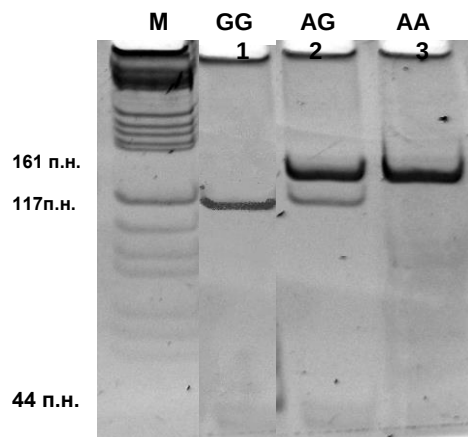


Рис.3.2. Електрофорез у 8 % поліакриламідному гелі продуктів *HspAI*-рестрикції фрагменту гена *FUT1* ампліфікованого у ПЛР.

М – маркер молекулярної маси (pBR322/BsuRI), 1-3 – ДНК свиней.

Результат рестрикційного аналізу ампліфікованого фрагмента гена *MUC4* за допомогою ферменту *XbaI* надано на рисунку 3.3. На доріжці 1 електрофореграми виявлено смугу, що відповідає генотипу GG, який відповідає стійкій до колібактеріозу тварині. Інші варіанти генотипів (CC та GC) на доріжках гена *MUC4*, 2 і 3 відповідають чутливими та схильним до колібактеріозу тваринам.

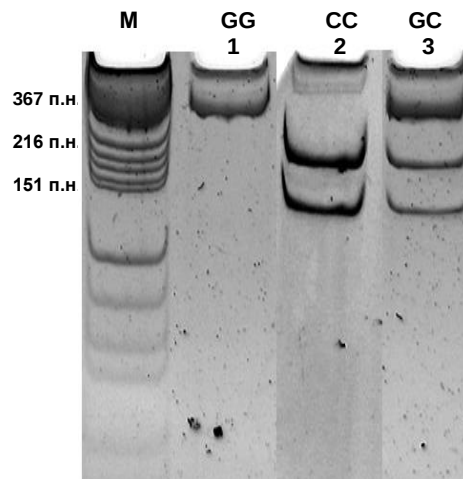


Рис.3.3. Електрофорез у 8 % поліакриламідному гелі продуктів *XbaI*-рестрикції фрагмента гена *MUC4* ампліфікованого у ПЛР.

М – маркер молекулярної маси (pBR322/BsuRI), 1–3 ДНК свиней.

Таким чином, проведено правильність методики визначення генотипів свиней за допомогою ПЛР-ПДРФ аналізу та отримано чіткі фрагменти генів *FUT1* та *MUC4*, що відкрило можливості проведення аналізу популяції свиней селекції Дніпропетровського СГІ за поліморфними генами α -фукозилтрансферази-1 та муцину 4.

Висновки до розділу 3.1

1. За результатами проведення ПЛР-ПДРФ аналізу ДНК свиней за генами *FUT1* та *MUC4* перевірено специфічність роботи праймерів та ферментів рестрикції.
2. Встановлено відповідність фрагментів рестрикції при розщепленні продуктів ампліфікації гена *FUT1* за допомогою ферментів *HgaI* і *HspAI*. Для проведення рестрикційного аналізу можливо з однаковою ефективно використовувати обидва ферменти.

3.2. Генетична мінливість популяції свиней селекції ДСГІ за генами *FUT1* та *MUC4*

За допомогою ДНК-маркування виявлено генетичний поліморфізм за геном *FUT1* серед усіх досліджуваних груп тварин популяції (табл. 3.2). Загалом популяція свиней селекції ДСГІ характеризується пониженою частотою 0,29 бажаного алеля А за геном *FUT1*. Серед плідників та маток розподіл частот алелів відповідає даним по всьому стаду. В інбредній групі тварин частота бажаного алеля А на 0,09 нижча, ніж серед усіх тварин із визначеними генотипами. Диференціація тварин за генотипами показала суттєві розбіжності розподілу генотипів за геном *FUT1* серед аутбредної та інбредної груп. Водночас слід зазначити, що розподіл генотипів за зазначеним геном серед плідників та маток був наближений до показників по стаду загалом.

Таблиця 3.2

Частоти генотипів та алелів за геном *FUT1* у популяції

Група тварин	n	Генотип			Алель		$S_{p,q}$	χ^2
		AA	AG	GG	A	G		
Плідники	36	0,06	0,44	0,50	0,28	0,72	0,050	0,42
Матки	55	0,06	0,47	0,47	0,29	0,71	0,040	1,17
Інбредні	35	0,12	0,17	0,71	0,20	0,80	0,058	7,54**
Аутбредні	56	0,03	0,63	0,34	0,34	0,66	0,034	10,54*
Усе стадо	91	0,06	0,46	0,48	0,29	0,71	0,031	1,55

** $P \geq 0,95$, * $P \geq 0,99$ (ймовірності розбіжності між розподілом генотипів досліджуваної популяції та відповідно до закону Харді-Вайнберга)

Показники розподілу алелів та генотипів за геном *MUC4* у досліджуваній популяції та окремих її групах наведено у таблиці 3.3. Встановлено, що популяція характеризується високим рівнем поліморфізму за геном *MUC4*. Значна частина тварин представлена генотипом GG, що зумовлює стійкість молодняку до кишкових розладів, спричинених кишковою паличкою. Слід відзначити, що інбредної лінії свиней української м'ясної породи, тип селекції ДСГІ, характерна найвища концентрація алеля G — 0,72 та відсутність тварин із небажаним генотипом CC.

Таблиця 3.3

Частоти генотипів та алелів за геном MUC4 у популяції

Група тварин	n	Генотип			Алель		$S_{p,q}$	χ^2
		GG	GC	CC	G	C		
Плідники	23	0,39	0,48	0,13	0,63	0,37	0,070	0,02
Матки	44	0,25	0,61	0,14	0,56	0,44	0,046	2,64
Інбредні	18	0,44	0,56	–	0,72	0,28	0,059	2,66
Аутбредні	49	0,25	0,57	0,18	0,53	0,47	0,047	1,06
Усе стадо	67	0,30	0,57	0,13	0,58	0,42	0,039	1,84

Розподіл тварин у популяції свиней селекції ДСПІ за частотою сукупних генотипів генів *FUT1* і *MUC4* наведено у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Генетичний поліморфізм сукупних генотипів генів *FUT1* і *MUC4* у популяції свиней селекції Дніпропетровського СПІ.

Генотип тварини	Усе стадо		Плідники		Матки		Кількість бажаних алелів	Частка бажаних алелів, %	Різниця бажані/небажані алелі	Рівень гетерозиготності, %
	n	%	n	%	n	%				
AAGG	–	–	–	–	–	–	4	100	+4	0
AAGC	4	6,35	2	10,00	2	4,65	3	75	+2	50
AGGG	7	11,11	2	10,00	5	11,63	3	75	+2	50
AACC	–	–	–	–	–	–	2	50	0	0
AGGC	19	30,15	5	25,00	14	32,56	2	50	0	100
GGGG	11	17,47	5	25,00	6	13,95	2	50	0	0
AGCC	6	9,52	4	20,00	9	20,93	1	25	–2	50
GGGC	13	20,64	1	5,00	5	11,63	1	25	–2	50
GGCC	3	4,76	1	5,00	2	4,65	0	0	–4	0

Українська низька концентрація генотипів AA за геном *FUT1* в популяції зумовлює відсутність варіантів генотипів AAGG і AACC, а генотип AAGC зустрічається з частотою 0,06 (4 особини). Проте близько 1/3 усіх тварин є гетерозиготними за обома генами, що дає можливість проводити їх подальше схрещування для отримання гомозиготних нащадків за алелями А та G

відповідно до генів *FUT1* і *MUC4*. А поєднання батьківських форм із генотипами AAGC та AGGG дасть можливість уже в першому поколінні отримати $\frac{1}{2}$ нащадків із найбажанішим поєднанням алелів (AAGG). Тому надалі необхідно проводити селекційні заходи, спрямовані на підвищення частки генотипів, що забезпечують стійкість тварин до колібактеріозу.

Розподіл комплексних генотипів тварин за генами *FUT1* і *MUC4* у порівнянні із нормальним розподілом в ідеальній популяції зображено на рисунку 3.4.

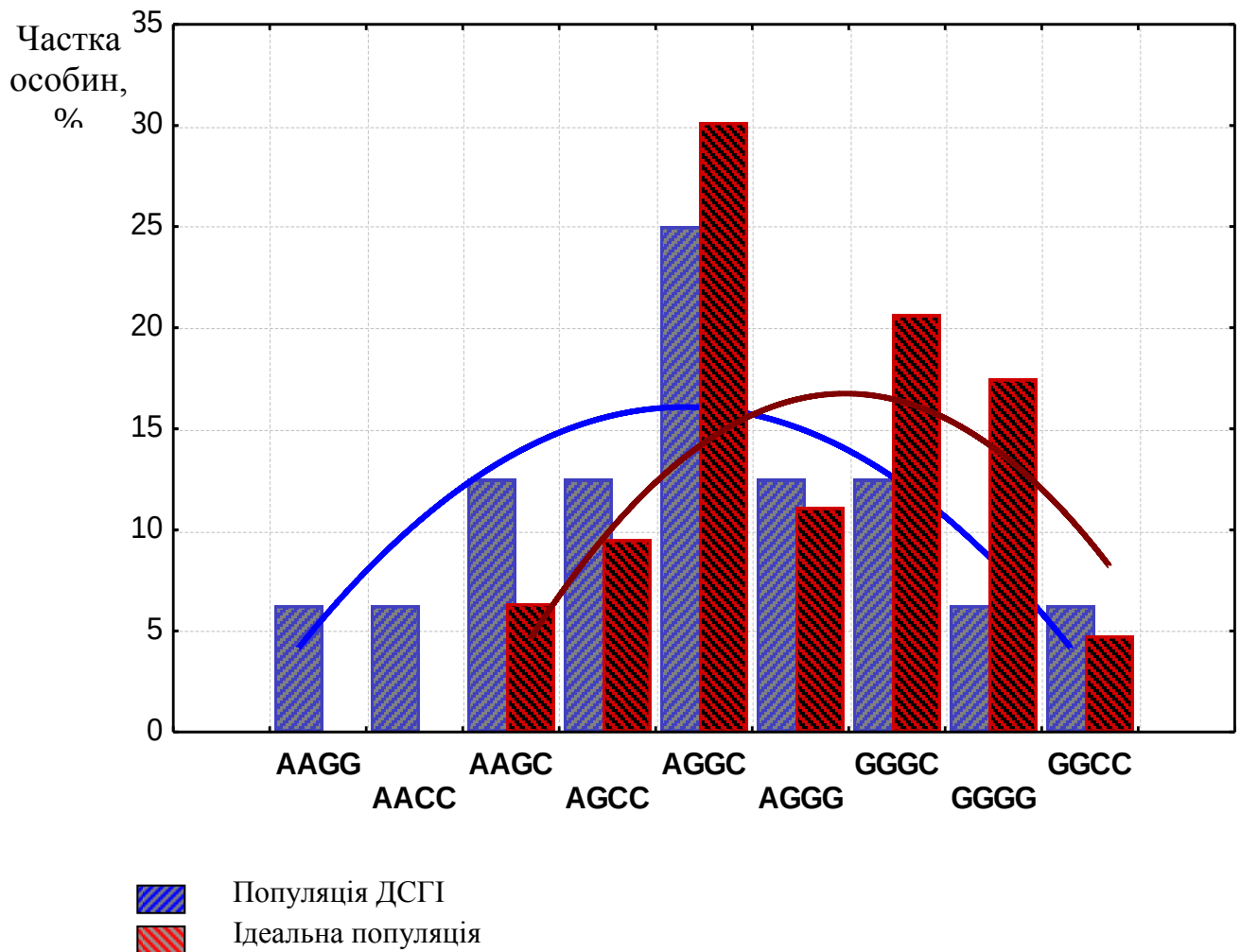


Рис. 3.4. Діаграма розподілу частки тварин у генофонді популяції комплексних генотипів за генами *FUT1* і *MUC4* у порівнянні із розподілом Харді-Вайнберга.

Особливості розподілу генотипів тварин у залежності від кількості бажаних алелів у генотипах, а також у порівнянні із нормальним розподілом в ідеальній популяції зображено на рисунку 3.5.

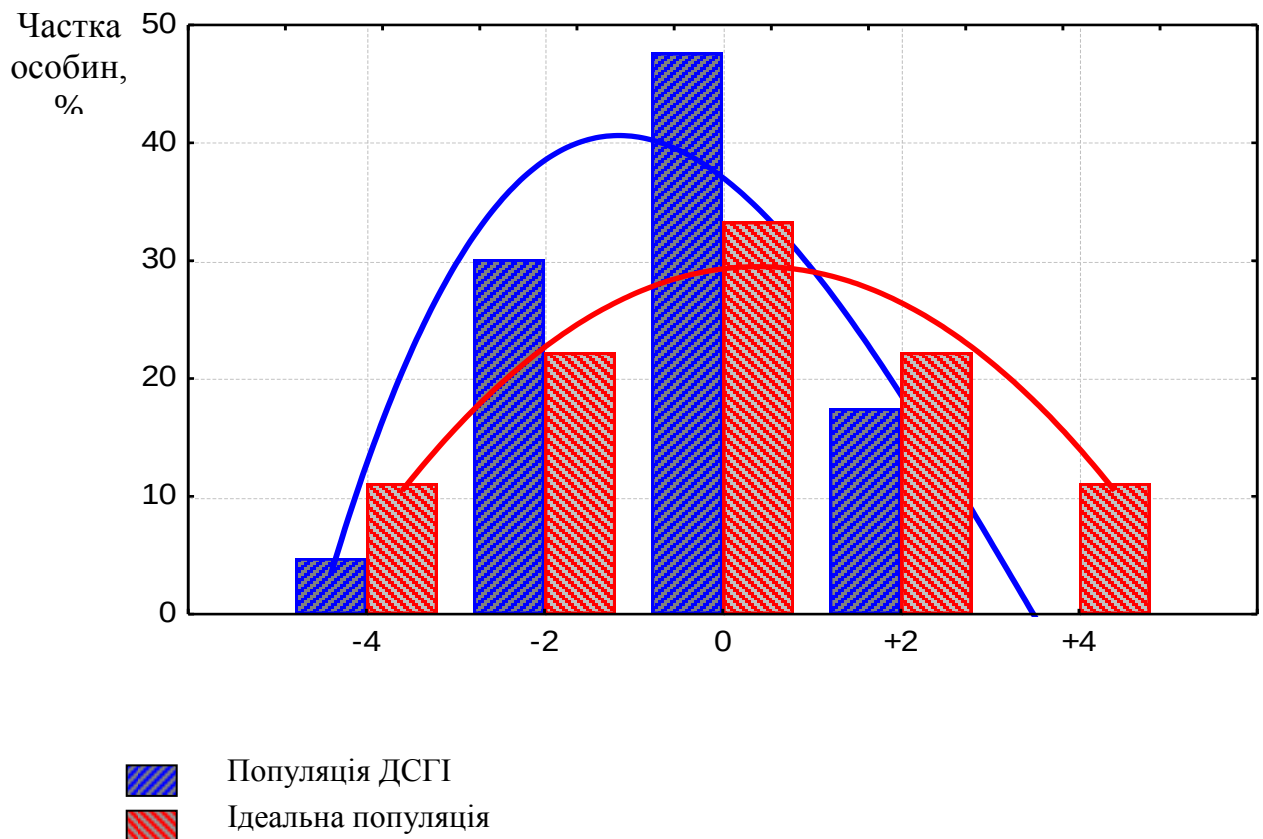


Рис. 3.5. Діаграма розподілу частки тварин у генофонді популяції в залежності від бажаності їх сукупного генотипу за генами *FUT1* і *MUC4*.

Як видно із наведених вище діаграм, у популяції свиней селекції Дніпропетровського СГІ генетична рівновага зміщена у бік небажаних генотипів генів *FUT1* і *MUC4* навіть у порівнянні із моделлю розподілу Харді-Вайнберга. Таке явище відбувається внаслідок усе тієї ж відсутності в стаді особин із генотипом AAGG та через надлишок тварин із генотипами, що формують кластери (0) та (-2), незважаючи на те, що частота найнебажанішого генотипу (GGCC), що формує кластер тварин (-4) нижча від тієї, що характерна для нормального розподілу генотипів. Тому головною задачею селекції тварин на стійкість до колібактеріозу є зміщення генетичної рівноваги в бік кластеру тварин (+4).

Серед дослідженої популяції свиней, а також в усіх її внутрішньопопуляційних структурах підраховано спостережену (H_o) і очікувану (H_e) гетерозиготність, а також визначено індекс фіксації Райта (F_{IS}), що вказує на надлишок гетерозигот та наявність інбридингу в популяції (таблиця 3.5).

Таблиця 3.5

Гетерозиготність та індекси фіксації за генами *FUT1* та *MUC4*

Ген	Група тварин	Очікувана гетерозиготність, H_E	Спостережена гетерозиготність, H_O	Індекс фіксації Райта, F_{IS}
<i>FUT1</i>	Усе стадо	0,408	0,462	-0,131
	Плідники	0,401	0,444	-0,107
	Матки	0,413	0,473	-0,146
	Інбредні	0,320	0,171	0,464
	Аутбредні	0,448	0,643	-0,434
<i>MUC4</i>	Усе стадо	0,487	0,567	-0,166
	Плідники	0,466	0,478	-0,026
	Матки	0,494	0,614	-0,243
	Інбредні	0,401	0,556	-0,385
	Аутбредні	0,498	0,571	-0,147

За геном *MUC4* у всіх групах тварин у популяції спостережена гетерозиготність була більшою за очікувану. Найменший індекс фіксації й водночас селекційний тиск спостерігається в розрізі групи плідників (-0,026), а найбільший (-0,385) — в інбредній лінії.

Графічне відображення отриманих величин для кожної із досліджуваних груп за генами *FUT1* та *MUC4* наведено у вигляді діаграми на рисунку 3.6.

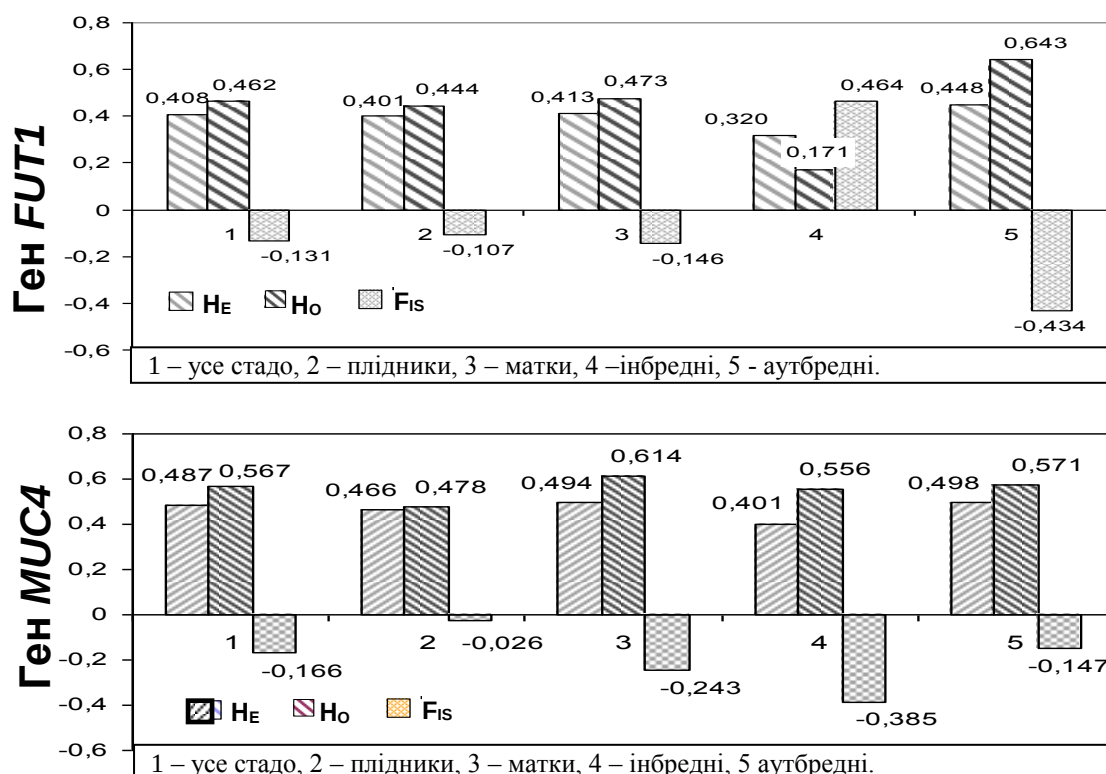


Рис. 3.6. Діаграма гетерозиготності та індексу фіксації Райта за генами *FUT1* та *MUC4* у досліджуваній популяції та за окремими групами.

Слід зазначити, що для всієї популяції за геном *FUT1* характерне невелике превалювання спостереженої гетерозиготності над очікуваною, ця закономірність спостерігається в розрізі груп плідників та маток. Однак для інбредних та аутбредних тварин виявлено певні особливості в розподілі гетерозигот. Для інбредної групи виявлено значно нижчу за очікувану спостережену гетерозиготність, а для аутбредних тварин спостерігаємо зворотну закономірність. Одночасно значення індексів фіксації для цих груп тварин вказують на наявність певного селекційного тиску.

За геном *MUC4* у всіх групах тварин у популяції спостережена гетерозиготність була більшою за очікувану. Найменший індекс фіксації і водночас селекційний тиск спостерігається в розрізі групи плідників ($-0,026$), а найбільший ($-0,385$) - в інбредній лінії.

Виявлення певних відхилень розподілу генотипів у популяції за досліджуваними генами можна проводити графічним методом. Нами побудовано діаграму розподілу алелів та генотипів Б. де Фінетті для популяції свиней типу селекції ДСГІ української м'ясної породи та її внутрішньопопуляційних елементів у поєднанні із параболою нормального розподілу Харді-Вайнберга, що зображено на рисунках 3.7–3.11.

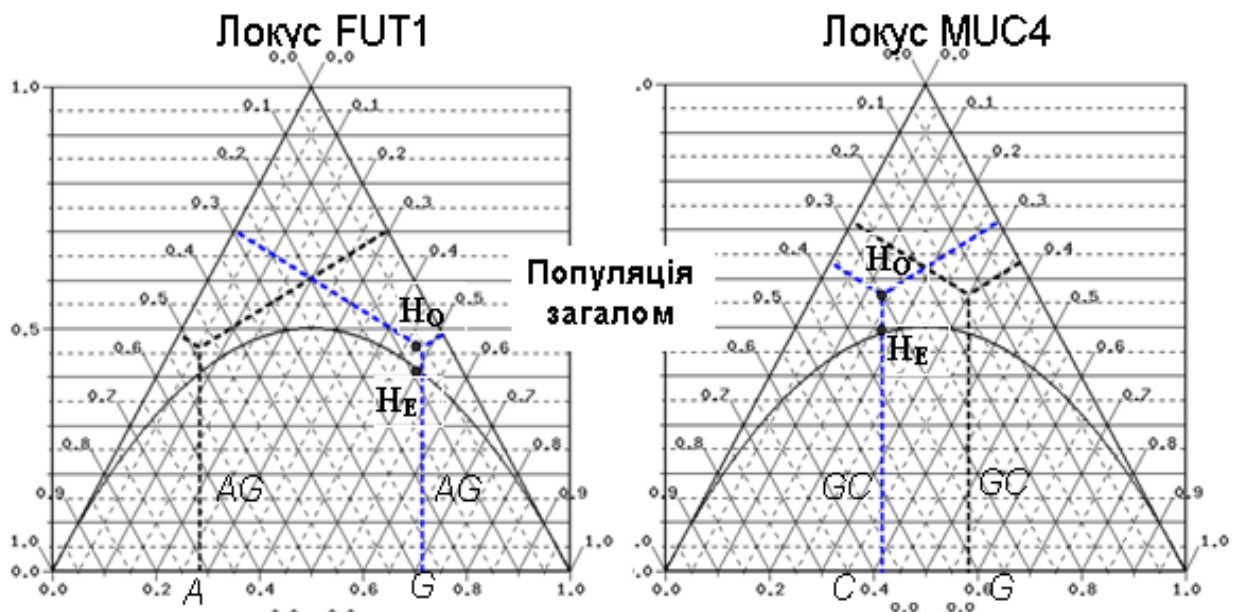


Рис. 3.7. Діаграми де Фінетті в поєднанні із нормальним розподілом Харді-Вайнберга за генами *FUT1* та *MUC4* для всієї популяції.

Взаєморозташування точок рівноваги H_E та H_O вказує не тільки на відповідний рівень гетерозиготності, а водночас на генетичну рівновагу в популяції. Як бачимо, найменше відхилення від нормального розподілу спостерігається в популяції в цілому за геном *FUT1*. У цьому випадку рівень інбридингу дуже низький, на що також вказує розрахунковий індекс фіксації Райта, що підтверджує відсутність спрямованої селекції

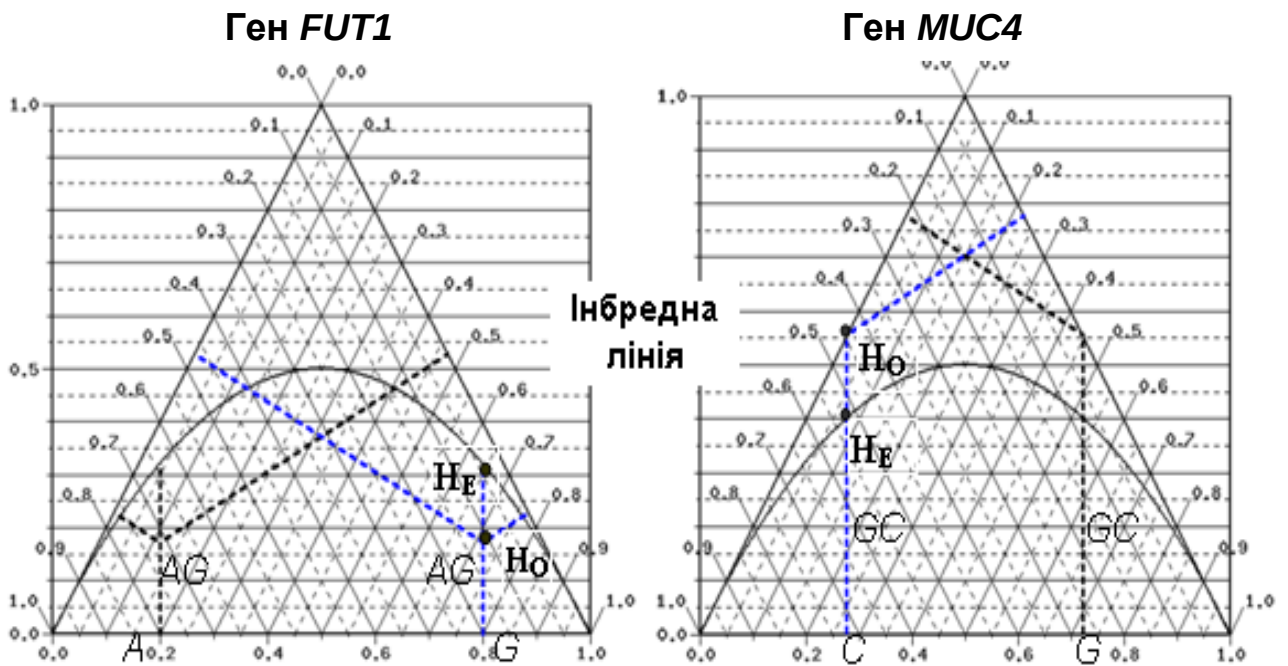


Рис.3.8. Діаграми де Фінетті в поєднанні із нормальним розподілом Харді-Вайнберга за генами *FUT1* та *MUC4* для інбредної лінії.

Для інбредних тварин (рис. 3.8) характерні досить значні відхилення від стану рівноваги ідеальної популяції за обома досліджуваними генами. Цей факт пояснюється відносно коротким періодом формування вказаної лінії, оскільки визначення генотипів проводили у тварин п'ятого покоління.

На рисунку 3.9 добре видно значне перевищення кількості гетерозиготних особин серед свиней аутбредної групи за обома досліджуваними генами відносно до теоретично можливого рівня.

Слід зазначити, що для плідників досліджуваної популяції характерна із високим ступенем ймовірності відповідність розподілу частот алелів до закону Харді–Вайнберга (рис. 3.11).

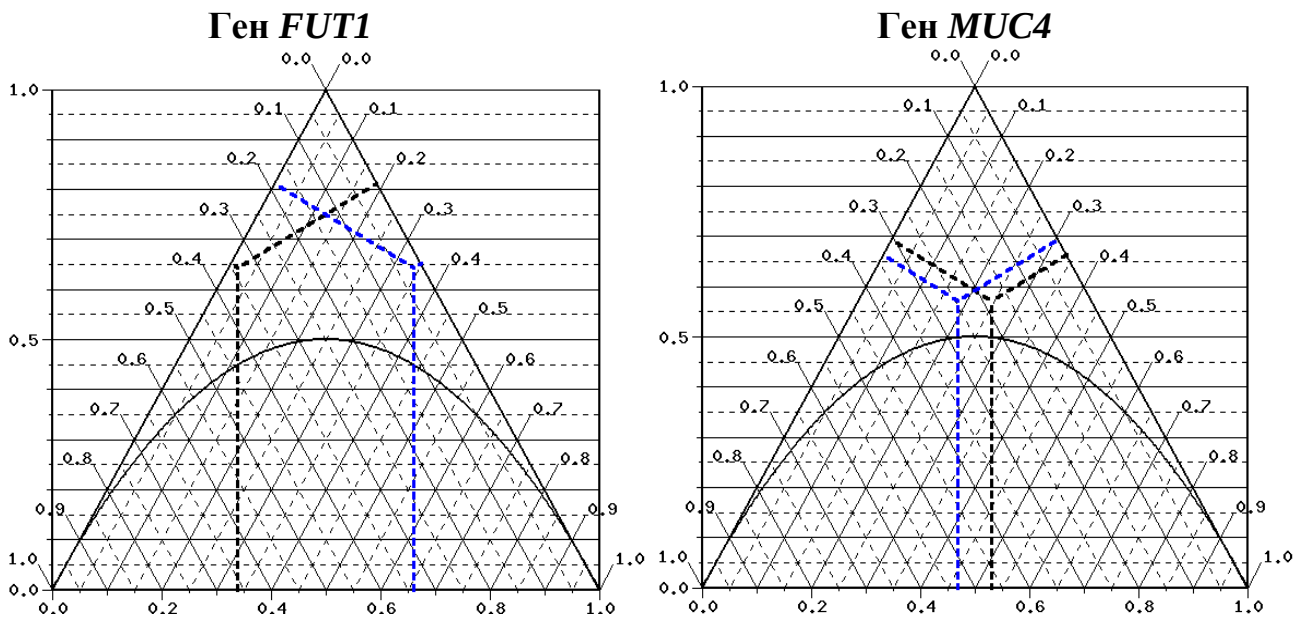


Рис. 3.9. Діаграми де Фінетті в поєднанні із нормальним розподілом Харді-Вайнберга за генами *FUT1* та *MUC4* для аутбредної групи популяції свиней селекції ДСГІ.

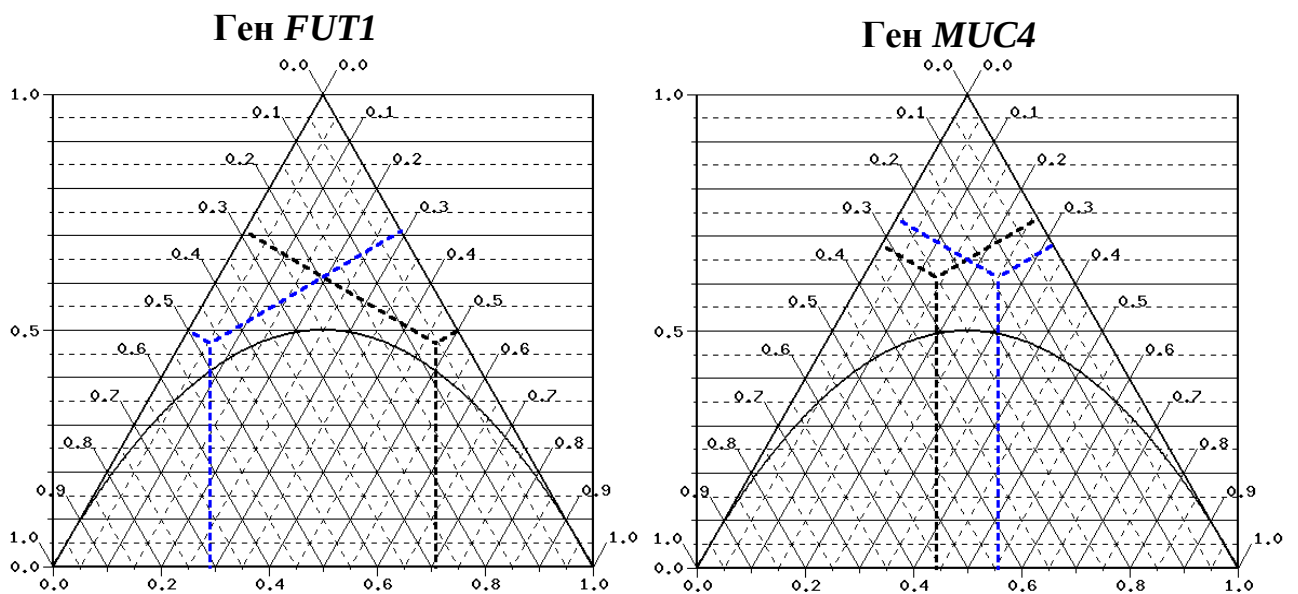


Рис. 3.10. Діаграми де Фінетті в поєднанні із нормальним розподілом Харді-Вайнберга за генами *FUT1* та *MUC4* для свиноматок популяції свиней селекції ДСГІ.

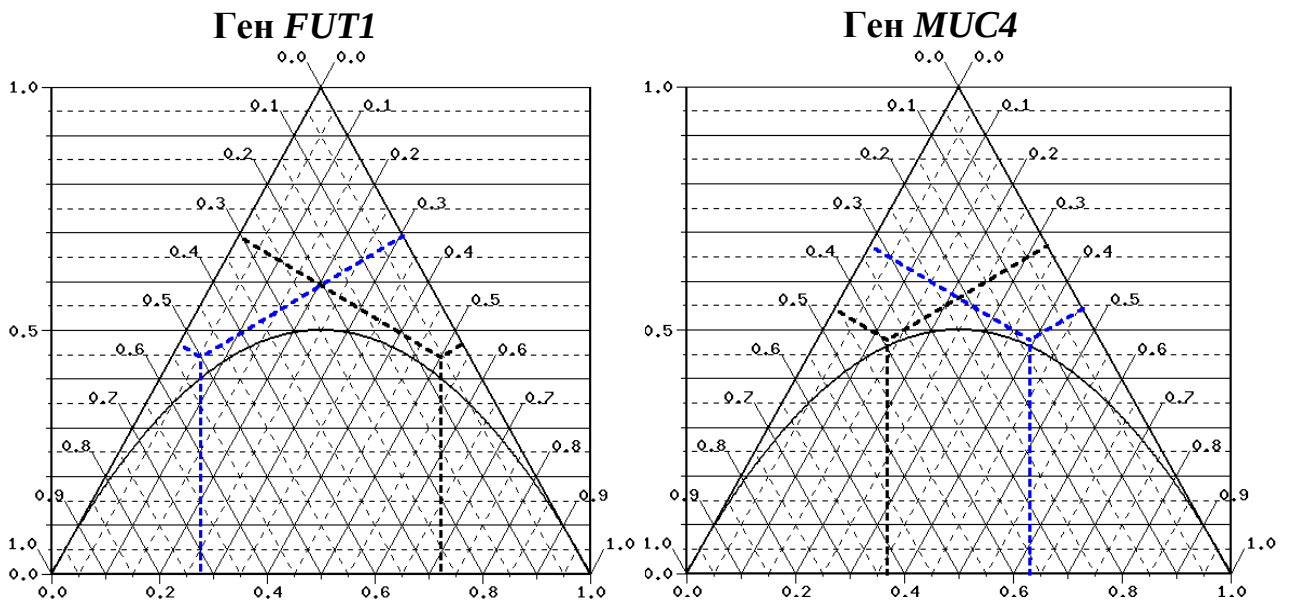


Рис. 3.11. Діаграми де Фінетті в поєднанні із нормальним розподілом Харді-Вайнберга за генами *FUT1* та *MUC4* для плідників популяції свиней селекції ДСГІ.

Висновки до розділу 3.2.

1. Встановлено концентрацію алелів серед тварин популяції за досліджуваними генами. Розподіл частот алелів А та G серед популяції за геном *FUT1* становить 0,29 та 0,71 відповідно, а за геном *MUC4* алелів G — 0,58 та С — 0,42.
2. Досліджувана популяція свиней характеризується вищою фактичною гетерозиготністю за обома генами відносно теоретично розрахованої, що може свідчити про відсутність спрямованого відбору за збереженістю поросят.
3. Для інбредної групи виявлено значно нижчу за очікувану фактичну гетерозиготність, а для аутбредних тварин спостерігаємо зворотну закономірність. Одночасно значення індексів фіксації для цих груп тварин указують на наявність певного селекційного тиску.

3.3. Генеалогічна структура популяцій свиней за поліморфними генами *FUT1* та *MUC4*

На підставі даних ДНК-типування 93 тварин досліджуваної популяції серед усіх досліджуваних генеалогічних груп є поліморфізм за генами *FUT1* і *MUC4* (рис. 3.12). У родинях Вольниці за обома генами, а Степової — за геном *MUC4* виявлені лише чутливий до колібактеріозу гетерозиготний. Родина Гордої за досліджуваними генами представлена трьома можливими генотипами. За геном *FUT1* у родинях Степової і Перемоги присутні чутливі гетерозиготний (генотип AG) і гомозиготи (генотип GG).

Встановлено, що генотип AA, який зумовлює стійкість до патогенних *E. coli* виявлений лише у тварин родини Гордої із частотою 0,07. У родинях Гордої і Перемоги виявлені всі три генотипи за геном *MUC4*. Частота генотипу GC за геном *MUC4* склала відповідно 0,56 і 0,46 у родинях Гордої і Перемоги, а генотипу GG — 0,31 — в обох зазначених родинях.

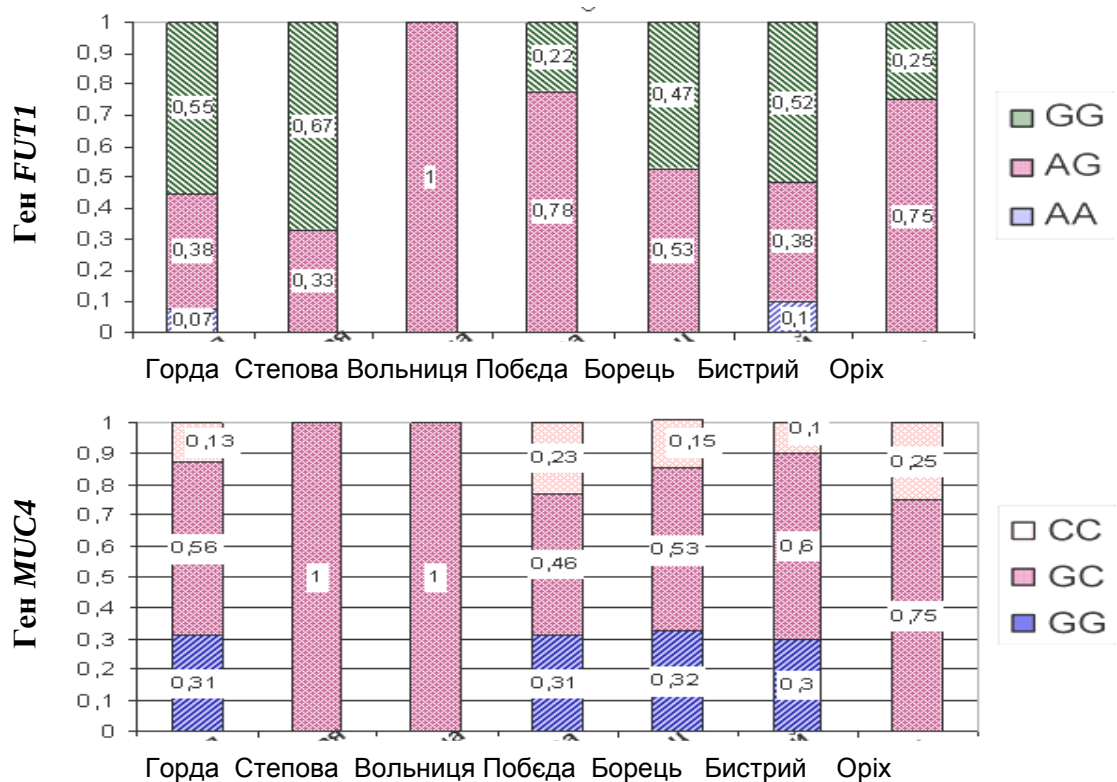


Рис. 3.12. Діаграма розподілу генотипів за генами *FUT1* і *MUC4* серед ліній та родин популяції свиней селекції ДСП.

У плідників селекції ДСГІ за геном *FUT1* тільки в лінії Бистрого зустрічаються тварини з генотипом AA з частотою 0,10. Концентрація генотипу AG (чутливий гетерозиготний) серед ліній популяції така: Борець — 0,53, Бистрий — 0,38, Оріх — 0,75. Небажані генотипи GG чутливих гомозигот присутні з частотою 0,47, 0,52 і 0,25 серед ліній Борця, Бистрого і Оріха відповідно. За геном *MUC4* кнури з небажаним генотипом CC серед ліній Бистрого, Борця і Оріха спостерігаються з частотою 0,10, 0,15 і 0,25, а кількість гетерозигот GC відповідно становить 0,60, 0,53 і 0,75. Частота бажаного генотипу GG за геном *MUC4* у лініях Борця і Бистрого — 0,32 і 0,30.

Результати аналізу генетичних взаємозв'язків між лініями та родинами популяції свиней селекції ДСГІ, засновані на розрахунку індексів генетичної ідентичності та генетичних дистанцій за поліморфізмом генів *FUT1* і *MUC4*, наведені в таблиці 3.6. Найбільш близькими генеалогічними елементами популяції за вивченими генами є лінія Бистрого і родина Вольниці, а також родини Степової і Гордої. Різниця між екстремальними значеннями генетичних дистанцій в 0,2619 одиниць також вказує на певну неоднорідність розподілу генотипів генів *FUT1* і *MUC4* у лініях і родинах популяції.

Таблиця 3.6

**Індекси генетичної ідентичності (I) і генетичні дистанції (D) між
генеалогічними елементами популяції**

I D	Лінії та родини						
	Горда	Победа	Степова	Вольниц я	Борець	Бистрий	Оріх
Горда	—	0,8335	0,9928	0,8912	0,9437	0,9218	0,9621
Победа	0,1821	—	0,7646	0,9920	0,8862	0,9814	0,9482
Степова	0,0072	0,2684	—	0,8351	0,9068	0,8799	0,9274
Вольниця	0,1152	0,0080	0,1802	—	0,9093	0,9935	0,9800
Борець	0,0579	0,1208	0,0978	0,0950	—	0,9507	0,9376
Бистрий	0,0814	0,0188	0,1393	0,0065	0,0506	—	0,9863
Оріх	0,0386	0,0532	0,0754	0,0202	0,0644	0,0138	—

На рисунку 3.13 представлена дендрограма генетичних взаємозв'язків між генеалогічними структурами популяції, розрахованими згідно з поліморфізмом генів *FUT1* і *MUC4* за допомогою методу незваженого попарногрупового арифметичного середнього (UPGMA).

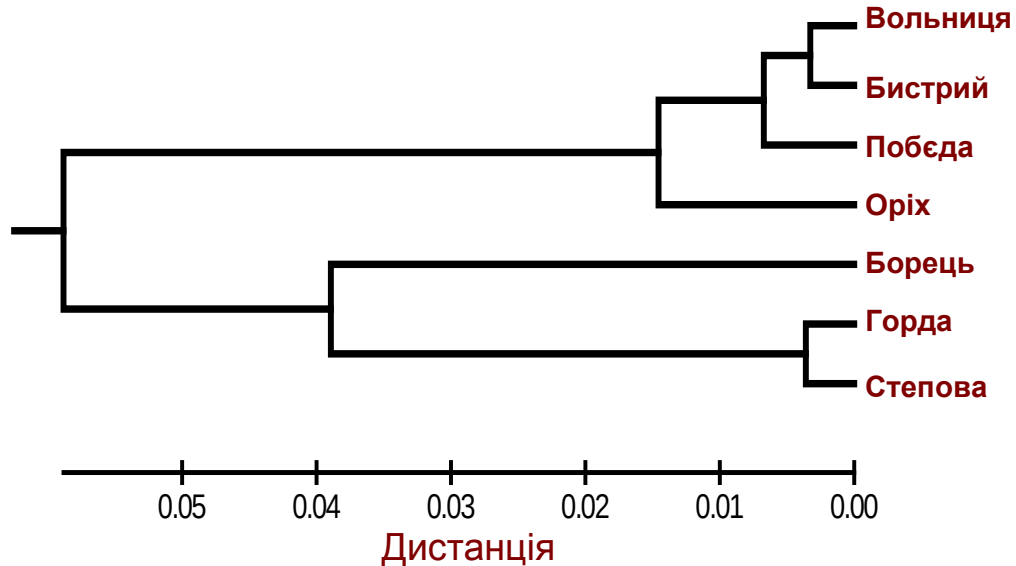


Рис. 3.13. Дендрограма генетичних зв'язків між лініями та родинами популяції свиней селекції Дніпропетровського СГІ з урахуванням поліморфізму за генами *FUT1* і *MUC4*.

На дендрограмі можна виділити два окремих кластери. В один з них входять лінії Бистрого і Оріха й родини Вольниці й Побєди, у другий — лінія Борця і дві родини: Гордої і Степової.

Дані кластеризації вказують на рівні філогенетичної зв'язки між лініями та родинами і можуть безпосередньо використовуватися в програмі селекційних заходів з урахуванням генетичної різноманітності за іншими поліморфним генами господарськи корисних ознак.

Висновки до розділу 3.3

1. За геном *FUT1* в усіх лініях і родинах переважають чутливі гомо- і гетерозиготний (генотипи GG і AG). Генотип AA зустрічається тільки в лінії Бистрого (0,10) і родині Гордої (0,07).

2. За геном *MUC4* в усіх генеалогічних елементах популяції переважають чутливі до колібактеріозу гетерозиготи (GC). У родинях Гордої і Перемоги та лініях Борця і Бистрого спостерігається незначне превалювання кількості особин зі стійким генотипом GG над чутливими — CC з частотою до 0,2.

3. Встановлено тісну внутрішньопопуляційну взаємодію генеалогічних елементів за досліджуваними генами. Найбільш генетично близькими є лінія Бистрого і родина Вольниці ($I = 0,9935$, $D = 0,0065$), а розбіжність спостерігається між родинями Степової і Перемоги ($I = 0,7646$, $D = 0,2684$).

3.4. Продуктивність та збереженість поросят у ранній постнатальний період при застосуванні традиційних методів розведення.

Селекційний процес передбачає не тільки постійну оцінку та відбір різними методами кращих, з погляду селекціонера, особин, але і їх системне використання в різних схемах схрещування. Належну увагу при цьому слід приділяти вітчизняним локальним породам, які є носіями генних комплексів, сформованих під впливом конкретної середовища проживання. І тим самим забезпечує оптимальні норми реакції, стійкості й збереження генетичних особливостей, відсутніх у так званих «комерційних порід», активно і повсюди впроваджуваних у національні системи розведення.

При роботі зі свинями селекції ДСПІ впродовж останніх 10 років ведеться формування високоінбредної лінії, представників якої також необхідно оцінити в системі схрещування.

Для реалізації поставленої мети була складена схема схрещування (табл. 3.7), відповідно до неї було проведено запліднення свиноматок, у яких після опоросу фіксувався рівень розвитку досліджуваних ознак.

**Схема схрещування для контролю продуктивності та збереженості поросят у
ранній постнатальний період при застосуванні традиційних методів розведення**

Група тварин	Призначення групи	Порода та породність		Кількість, голів		Вивчалися
		Матки	Хряки	Матки	Хряки	
I	контрольна	ВБ	ВБ	8	2	Багатоплідність маток, великоплодність поросят, маса 1 голови на 5 -, 10 -, 21 добу, збереженість поросят і причини відходу на 5 -, 10 -, 21 добу,
II	дослідна	УМ	УМ	7	2	
III	дослідна	ВБ	УМІ	8	2	

Примітки: ВБ — велика біла порода свиней;

УМ — українська м'ясна порода (аутбредна лінія);

УМІ — українська м'ясна порода (інбредна лінія).

У якості контрольної групи використовувалися свині великої білої породи при чистопородному розведенні. Свиноматки, відібрані в дослід, мали однаковий вік — 2 опороси, відповідали вимогам класу «Еліта», згідно з діючою інструкцією з бонітування свиней, були добре розвинені й знаходилися в нормальному фізіологічному стані.

Проведені дослідження показали, що багатоплідність чистопородних маток великої білої як при чистопородному розведенні, так і при схрещуванні їх з інбредних кнурами української м'ясної породи знаходиться на досить високому й однаковому рівні. Свиноматки української м'ясної породи не поступалися їм за цією ознакою. Слід зазначити більш високу мінливість багатоплідності у великих білих свиней при осіменінні їх інбредними кнурами, що викликано підвищенням рівня ознаки і стовідсотковою кількістю живих поросят при народженні при такій схемі розведення (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Багатоплідність маток і збереженість поросят.

Група тварин	Багатоплідність					5 день		10 день		21 день	
	усього, голів	C_V^0 , %	lim, min-max	живих, %	$C_V^{ж}$, %	збереженість, %	C_V^5 , %	збереженість, %	C_V^{10} , %	збереженість, %	C_V^{21} , %
I	11,6±0,32	7,88	11–12	97,9±1,36	3,94	94,39±1,65	4,95	85,73±2,34	7,71	79,08±1,57	5,60
II	11,3±0,18	4,32	11–12	96,1±2,71	7,44	88,64±2,5	6,37	85,73±1,52	4,69	81,81±2,52	8,16
III	11,4±0,82	20,45	9–15	100	–	97,23±1,36	3,95	94,45±1,72	5,14	90,64±2,22	6,91

У дослідній групі зафіксована більш висока збереженість поросят протягом усього облікового періоду до 21 дня, коли найбільш активно йде засвоєння молока свиноматки. До цього віку збереженість поросят у III групі була на 9,2–11,5% вищою в порівнянні з групами II та I. За час проведеного досліді також щодобово підраховувався падіж поросят і його причини. Так, з усіх померлих тварин 26% мали клінічні ознаки респіраторних захворювань, а 44% — ознаки кишкової інфекції.

Незважаючи на наявність більш багатоплідних гнізд, отриманих за схемою схрещування ВБхУМІ, великоплідність народжених поросят у дослідній групі не поступалася отриманій при чистопородному розведенні свиней української м'ясної і великої білої порід (табл. 3.9, рис. 3.14).

У групі III поросята при народженні мали масу на 3,7% більше, ніж у групі II і на 5,6%, ніж чистопородні тварини групи I. У віці 5 днів помісні поросята на 0,61–0,63 кг перевищували масу чистопородних тварин обох порівнюваних груп при достовірності $P > 0,95$. На 10 день розходження між поросятами, отриманими за схемою ВБ х УМІ і великими білими збільшилося до 1,41 кг, а з українськими м'ясними — на 1,48 кг ($P > 0,99$). До віку в 21 день різниця в живій масі тваринами групи III в порівнянні з групами II та I склала 66,1% і 68,8% відповідно при високому ступені достовірності ($P > 0,999$).

Таблиця 3.9

Маса поросят у постнатальний період

Група тварин	N, голів	Великоплідність		5 день		10 день		21 день	
		кг	C_v^0 , %	кг	C_v^5 , %	кг	C_v^{10} , %	кг	C_v^{21} , %
I	91	1,06±0,02	19,67	1,98±0,05	22,87	2,79±0,09	28,05	4,39±0,1	18,59
II	79	1,08±0,02	19,98	2,00±0,05	22,95	2,86±0,09	27,60	4,46±0,1	18,18
III	93	1,12±0,02	17,40	2,61±0,05***	24,92	4,27±0,09**	19,34	7,41±0,23*	28,78

Примітка: *** $P > 0,95$; ** $P > 0,99$; * $P > 0,999$.

На рисунку 3.14 добре видно різницю в динаміці набору маси між підсисними поросятами чистопородних тварин обох досліджуваних порід і поросятами, отриманими від схрещування великих білих свиноматок із інбредними плідниками.

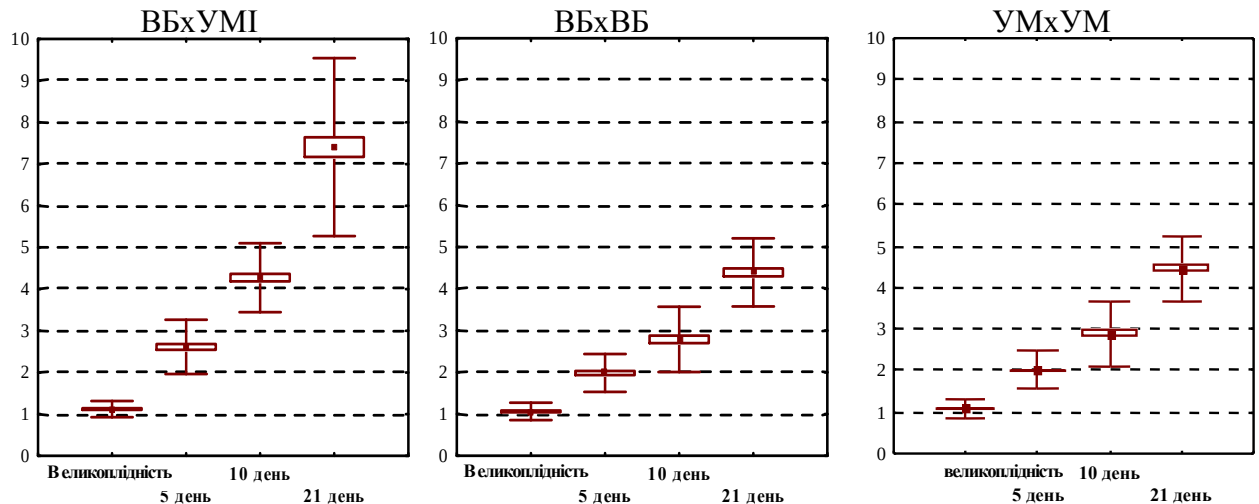


Рис. 3.14 . Діаграми зміни маси поросят до 21 дня

■ – середнє (M); □ – середнє±стандартна помилка ($M \pm m$);
 I – середнє±стандартне відхилення ($M \pm s$).

У результаті проведених досліджень встановлено, що багатоплідність чистопородних свиноматок української м'ясної і великої білої порід знаходиться на високому рівні й не відрізняється від отриманого при осіменінні останніх інбредними кнурами української м'ясної породи; використання інбредних кнурів, отриманих на основі української м'ясної породи внутрішньопородного типу селекції ДСГІ, для схрещування з матками великої білої породи вірогідно збільшило збереженість і масу помісних підсисних поросят. У віці 21 день вони на 66,1–68,8% перевищували масу чистопородних тварин.

Висновки до розділу 3.4

1. Встановлено, що за живою масою при народженні чистопородні та гібридні поросята вірогідно ($P < 0,95$) не відрізнялися.
2. На 21 день гібридні поросята вірогідно ($P > 0,99$) мали більшу збереженість (до 11,5%) і масу (до 68,8%) у порівнянні з чистопородними тваринами великої білої та української м'ясної породи.
3. Серед померлих тварин 26% мали клінічні ознаки респіраторних захворювань, а 44% - ознаки кишкової інфекції.

3.5 Відгодівельні якості поросят, отриманих при застосуванні традиційних методів розведення

В Україні є достатньо багатий генофонд порід свиней, який можна ефективно використовувати в системі гібридизації для одержання тварин з високими відгодівельними якостями. Однак до сьогодні в багатьох господарствах, у тому числі й спеціалізованих, має місце безсистемне використання генотипів, що може негативно позначитися на формуванні стад, й усуває можливість ефективно впроваджувати у виробництво досягнення сучасної селекційної науки.

Останнім часом широкого поширення набула міжпородна гібридизація, яка передбачає розведення свиней за спеціалізованими породами, лініями і типами й подальшими їх кросами, що приводить до підвищення продуктивності й життєздатності тварин, отриманих цим способом. Тому важливим фактором у збільшенні прояву гетерозисних ефектів при схрещуванні, а особливо гібридизації, є вивчення впливу порід, ліній на комбінаційну здатність.

При відборі свиней за відгодівельними й м'ясними якостями останнім часом значна увага приділяється вивченню закономірностей процесу росту й розвитку тварин. Це зі свого боку дозволить підвищити точність оцінки племінної цінності тварин у більш ранньому віці, що й буде сприяти зменшенню генераційних інтервалів і прискоренню темпів процесу селекції. Таким чином, слід зазначити актуальність досліджень, заснованих на вивченні параметрів росту тварин і їх залежності від відтворювальних і відгодівельних якостей

Для реалізації поставленої мети була складена схема схрещування (табл. 3.10), відповідно до неї було проведено запліднення свиноматок, після опоросу яких фіксувався рівень розвитку досліджуваних ознак. У якості контрольної групи використовувалися свині великої білої породи чистопородного розведення. Свиноматки, відібрані в дослід, мали однаковий

вік — 2 опороси, відповідали вимогам класу «Еліта», згідно з діючою інструкцією з бонітування свиней, були добре розвинені й знаходилися в нормальному фізіологічному стані. Умови утримання й годівлі під час осіменіння, поросності й підсисний період тварин усіх схем схрещування були ідентичні.

Таблиця 3.10

**Схема схрещування для контролю відгодівельних якостей поросят,
отриманих при застосуванні традиційних методів розведення**

Група тварин	Призначення групи	Порода та породність		Кількість, голів		Вивчалися
		Матки	Хряки	Матки	Хряки	
I	контрольна	ВБ	ВБ	8	2	Великоплідність поросят, маса 1 голови на 21 -, 60-, 180 добу. Скоростиглість, добові прирости в періоди: 0-21 день, 21-60 днів, 60-180 днів.
II	контрольна	УМ	УМ	7	2	
III	дослідна	ВБ	УМІ	8	2	

Примітки: ВБ - велика біла порода свиней;

УМ - українська м'ясна порода (аутбредна лінія);

УМІ - українська м'ясна порода (інбредна лінія).

Згідно з експериментальними даними тварини, відібрані в дослід, мали досить високі показники зростання й продуктивності (табл. 3.11, 3.12). У всіх досліджуваних групах поросята при народженні були ідентичні за масою, з деякою перевагою III групи на 5,6 і 3,7% над I та II відповідно. Варіабельність тварин за показником великоплідності знаходилася на однаковому рівні. Протягом підсисного періоду – до 21 дня – спостерігалася значна перевага гібридних тварин над чистопородними, що вказує на наявність достатньої генетичної мінливості у виробників і маток, що забезпечило хороший гетерозисний ефект. Так, у цей період поросята, отримані при схрещуванні інбредних кнурів української м'ясної (УМІ) з матками великої білої (ВБ) породи, на 6,63 і 6,01% випереджали за масою поросят, отриманих від батьківських форм великої білої та української м'ясної порід. Однак у гібридних тварин

спостерігається підвищений рівень гетерогенності (у середньому до 88%) за досліджуваним показником у порівнянні з чистопородними.

Це явище можна пояснити певною спорідненістю тварин за генеалогією, оскільки тип селекції ДСГІ української м'ясної породи формувався на основі великої білої з прилиттям крові породи беркшир, а пізніше – ландрас.

Таблиця 3.11

Маса поросят у період дорощування та відгодівлі

Група тварин	N, голів	Великоплідність, кг	C_v^0 , %	На 21 день		На 60 день		На 180 день	
				кг	C_v^{21} , %	кг	C_v^{60} , %	кг	C_v^{180} , %
I	91	1,06±0,02	19,67	4,39±0,96	18,59	12,59±0,26	11,61	87,27±1,01	11,75
II	79	1,08±0,02	19,98	4,46±0,1	18,18	12,67±0,24	10,81	89,34±0,93	11,04
III	93	1,12±0,02	17,40	7,14±0,27	34,67	14,30±0,21	11,47	91,06±1,42	17,63

Враховуючи вищевикладене, відлучення поросят III групи було проведено на 21 день, тоді як в I та II групи — на 35 день. У післявідлучний період гібридні тварини достовірно ($P>0,95$) перевищували за вагою поросят, отриманих при чистопородному розведенні. На 60 день середня маса 1 голови в III групі була на 13,6 і 12,9% більшою, ніж у I та II групах відповідно. Маса підсвинків у всіх досліджуваних групах в кінці відгодівельного періоду (180 днів) достовірно не відрізнялася. При цьому слід зазначити деяку перевагу тварин III та II груп за цим показником у 4,3 і 2,4% над I групою. За отриманими даними скоростиглість тварин не перевищила 190 днів. Однак гібридні тварини за цим показником на 5 і 7 днів випереджали чистопородні аналоги. Аналізуючи показники добових приростів у всіх досліджуваних періодах, необхідно відзначити деякі особливості його зміни. У період від народження до 21 дня середньодобові прирости маси кросів ВБхУМІ були в 2 рази більші, ніж у відповідних їм тварин, отриманих за схемою (ВБхВБ) і (УМхУМ).

Прирости та скоростиглість поросят на відгодівлі

Група тварин	Скоростиглість		Щодобовий приріст маси за 0 – 21 діб		Щодобовий приріст маси за 22 – 60 діб		Щодобовий приріст маси за 61 – 180 діб	
	днів	Cv, %	г	Cv, %	г	Cv, %	г	Cv, %
I	197±1,4	11,79	157,9±4,6	11,73	210±7,4	11,74	622±8,4	11,71
II	195±1,29	11,04	160,8±5,1	13,78	214,2±8,7	13,59	639±8,2	10,35
III	190±1,78	17,68	323,5±23,7	27,57	167,3±17,9	17,22	643±12,3	17,62

У період після відлучення у III групі помітно значне падіння інтенсивності росту, в той же час у I та II групах простежується динаміка до поступового щодобового збільшення живої маси поросят. Це явище можна пояснити фізіологічною неготовністю гібридних поросят на 21 переходити на новий корм. Тому проводити раннє відлучення в дослідній групі, як і в контрольних, небажано. У період відгодівлі 60-180 днів усі тварини показали хороші показники приросту живої маси. Слід зазначити, що тварини III групи після стресу, викликаного раннім відлученням, вийшли на відповідні показники приростів I та II груп, з невеликою перевагою в 3,4 і 0,6%.

Висновки до розділу 3.5

1. Встановлено, що в післявідлучний період гібридні тварини достовірно ($P>0,95$) перевищували за масою поросят, отриманих при чистопородному розведенні до 13,6% на 60 день від народження.
2. У кінці відгодівельного періоду (180 днів) за масою усі тварини достовірно не відрізнялися з перевагою до 4,3% у бік гібридних тварин, що можна пояснити їх більш раннім відлученням (на 21 день) у порівнянні з чистопородними тваринами (на 30 день).

3.6. Репродуктивні якості свиней за генами *FUT1* і *MUC4*

При дослідженні репродуктивних якостей було відібрано по три повновікові свиноматки генотипів AGGC, GGGG та GGGC за генами *FUT1* і *MUC4*. Для запліднення піддослідних маток використовували гетерозиготного за обома досліджуваними генами плідника (генотип AGGC). Аналіз отриманих даних показав, що багатоплідність у кожній досліджуваній групі тварин була близько 11 голів на опорос, тим самим встановлено, що поліморфізм за генами *FUT1* і *MUC4* не впливає на відтворну здатність маток (табл. 3.13). За великоплідністю в усіх групах поросята народжувалися із вагою близько 1,1 кг при ($p \leq 0,001$). При відлученні найбільшу масу в 30-денному віці на 2,2% та 1,5% мали нащадки від повністю гетерозиготної свиноматки відповідно до II та III групи. Збереженість поросят при відлученні кращою була у I групі і склала 91,3 %.

Таблиця 3.13

Репродуктивні якості піддослідних свиноматок

Група	Генотип матки	Багато- плідність, голів	Велико- плідність, кг	У 30 днів			Збереженість поросят, %
				Кількість поросят, гол	Маса гнізда, кг	Маса 1 голови, кг	
I	AGGC	11,1 ± 0,56	1,12 ± 0,02	10,7 ± 0,30	62,1,0 ± 0,97	5,81 ± 0,12	91,3 ± 3,20
II	GGGG	10,9 ± 0,46	1,1 ± 0,01	8,7 ± 0,39	49,4 ± 1,55	5,68 ± 0,13	81,3 ± 4,52
III	GGGC	11,0 ± 0,63	1,1 ± 0,02	8,9 ± 0,46	50,9 ± 1,45	5,72 ± 0,18	80,09 ± 4,48

За стандартних умов молодняк різних генотипів ріс та розвивався не однаково. Аналіз даних (табл. 3.14) свідчить, що молодняк при поєднанні маток із групи I із гетерозиготним плідником селекції ДСГІ мав кращі показники росту та розвитку, ніж аналоги із груп II і III в усі вікові періоди.

Жива маса піддослідних поросят у залежності від віку ($M \pm m$), кг.

Група тварин	Генотип матки	Кількість голів, n	Вік, днів				
			при народженні	у 5-денному віці	у 10 - денному віці	у 21-денному віці	у 30-денному віці
I	AGGG	34	1,12 $\pm$ 0,02	2,37 $\pm$ 0,24	3,62 $\pm$ 0,30	4,5 $\pm$ 0,78	5,81 $\pm$ 1,12
II	GGGG	32	1,1 $\pm$ 0,01	2,28 $\pm$ 0,29	3,59 $\pm$ 0,47	4,42 $\pm$ 0,68	5,68 $\pm$ 1,13
III	GGGC	33	1,1 $\pm$ 0,02	2,15 $\pm$ 0,26	3,56 $\pm$ 0,32	4,46 $\pm$ 0,78	5,72 $\pm$ 0,18

Експериментальні дані свідчать, що потомство, отримане при схрещуванні повністю гетерозиготних батьків за генами *FUT1* і *MUC4* мало перевагу над генотипами, що є гомозиготними хоча б по одному з генів, алельні варіанти яких формують чутливість до колібактеріозу.

Висновки до розділу 3.6

1. Встановлено, що багатоплідність свиноматок та великоплідність поросят в опоросі не залежать від генотипу батьківських форм.
2. Кращу збереженість при відлученні мають поросята, отримані від гетерозиготних за обома генами батьківських форм на 10% більше від поєднання AGGCxGGGG та на 10,5% більше від поєднання AGGCxGGGC.
3. Більшу масу при відлученні на 2,2% та 1,5% мають нащадки від гетерозиготних батьків відповідно до поєднань AGGCxGGGG та AGGCxGGGC.

3.7. Вплив поліморфізму генів *FUT1* та *MUC4* на збереженість підсисних поросят

Аналіз результатів молекулярно-генетичних досліджень, проведених на піддослідних тваринах, дозволив виявити частоту генотипів досліджуваних генів (таблиці 3.15, 3.16).

Таблиця 3.15

Частоти генотипів і алелів гена *FUT1* у свиней основного стада селекції ДСГІ

Статевовікова група	Голів	Частота генотипів, %			Частота алелів	
		AA	AG	GG	A	G
Плідники основні	36	0,06	0,44	0,50	0,28	0,72
Свиноматки основні	55	0,06	0,47	0,47	0,29	0,71

За даними таблиці 3.15, приблизно половина всіх статевозрілих тварин популяції свиней селекції ДСГІ має небажаний генотип GG гена α -фукозилтрансферази-1. Як у свиноматок, так і в плідників частоти розподілу алелів A та G гена *FUT1* були близькі за значеннями.

Таблиця 3.16

Частоти генотипів і алелів гена *MUC4* в основному стаді свиней селекції ДСГІ

Статевовікова група	Голів	Частота генотипів			Частота алелів	
		GG	GC	CC	C	G
Плідники основні	23	0,39	0,48	0,13	0,63	0,37
Свиноматки основні	44	0,25	0,61	0,14	0,56	0,44

Згідно з наведеними даними частота бажаного генотипу GG у плідників на 14 % вища, ніж у свиноматок. Небажані гомозиготні генотипи CC представлені у різних батьківських формах на приблизно однаковому рівні.

Оскільки наявність у генотипі свиней мутантного алеля G і C генів-рецепторів *E. coli FUT1* і *MUC4* пов'язана з можливою втратою поросят, в аналізі дії генів важливу роль відіграє збереження молодняку до відбирання (таблиця 3.17).

Таблиця 3.17

**Вплив поліморфізму генів *FUT1* і *MUC4* на продуктивність
свиноматок селекції ДСГІ**

Показники продуктивності	Генотипи свиноматок					
	за геном <i>FUT1</i>			за геном <i>MUC4</i>		
	AA	AG	GG	GG	GC	CC
Вивчено опоросів	3	36	54	25	45	12
Багатоплідність, гол.	10,3±0,67	9,9±0,34	10,2±0,46	10,3±0,26	10,4±0,18	10,4±0,56
Відлучених поросят, гол.	9,6±0,54	8,7±0,42	7,8±0,46	9,5±0,26*	9,0±0,12	7,2±0,31
Збереженість на 21 день, %	93,4±4,1*	87,9±2,7*	76,5±3,4	92,3±1,35**	86,6±1,28	69,3±4,2

Примітка: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Аналіз даних таблиці 3.17 показав, що за багатоплідністю матки української м'ясної породи (тип селекції ДСГІ) з різними генотипами (як за геном *FUT1*, так і за *MUC4*) достовірно між собою не розрізнялися. У той же час свиноматки з генотипом AA і AG (*FUT1*) достовірно ($p < 0,05$) переважали за збереженістю над аналогами з генотипом GG на 16,9 і 11,4% відповідно. Свиноматки з генотипом GG за геном *MUC4* із достовірністю $p < 0,01$ перевершували маток з генотипом CG за кількістю та збереженістю поросят при відлученні на 0,5 голів і 5,7% відповідно. Значно поступалися за досліджуваними показниками тварини з генотипом CC за геном *MUC4* на 23,0% і 17,3% за збереженістю і на 2,3 і 1,8 голів відлучених поросят у порівнянні із генотипами GG та GC.

Сучасні генетико-популяційні методи дозволяють здійснювати добір батьківських форм за конкретними алелями та генотипами, внаслідок чого значно підвищується ефективність селекційної роботи. Добір конкретних особин для відтворення поголів'я є одним з основних методів селекційної роботи в зоотехнії та свинарстві зокрема. Відомо, що від свиноматок поросята успадковують тільки половину спадкової інформації. Тому інтерес представляє вивчення впливу генотипів плідників на ріст, розвиток та

стійкість до хвороби поросят. Крім цього, при підборі батьківських пар можливо спрогнозувати генотипи майбутнього потомства. Результати варіантів підбору представлені в таблиці 3.18.

При аналізі даних були виявлені такі особливості. За наявності алеля А гена *FUT1* у генотипі як матері, так і батька (АА х АГ і АГ х АГ) збереженість поросят достовірно ($p < 0,05$) підвищувалася на 23,2 % і 19,9 % у порівнянні з потомством, отриманим від батьківських пар, у генотипі яких присутній виключно G алель.

Таблиця 3.18

Збереження підсисних поросят залежно від підбору пар з урахуванням поліморфізму генів *FUT1* і *MUC4*

Генотип (мати х батько)	N, опоросів	Багато- плідність, гол.	Кількість поросят при відлученні, гол	Збереженість на 21 день, %
		M±m	M±m	M±m
Ген <i>FUT1</i>				
AA x AG	3	10,3±0,67	9,6±0,66	93,4±4,1
AG x AG	24	9,8±0,25	8,8±0,29	90,1±3,2
AG x GG	12	10,2±0,54	8,6±0,33	84,8±3,6
GG x AG	34	10,1±0,42	8,2±0,34	81,3±2,4
GG xGG	20	10,4±0,45	7,3±0,61	70,2±4,5
Ген <i>MUC4</i>				
GG x GG	19	10,1±0,35	9,4±0,20	93,1±3,0
GG x GC	6	10,6±0,49	9,6±0,55	90,7±2,6
GC x GG	35	10,3±0,26	9,1±0,17	88,4±2,3
GC x CG	10	10,3±0,53	8,6±0,25	83,6±3,6
CC x CC	12	10,4±0,54	7,2±0,31	69,3±4,2

В умовах СТОВ «Луговське» при спарюванні маток і плідників виключно із генотипами GG гена *MUC4* було виявлено підвищення збереженості поросят до відлучення у порівнянні з тваринами, отриманими від батьківських пар, де одна або обидві батьківські форми мають генотип GC у середньому на 5,5 %, а тваринами з генотипом CC — на 23,8 %. Різниця в кількості поросят до відлучення між поєднаннями гомозиготних плідників та маток за алелем G гена *MUC4* та поєднаннями батьківських форм GCxCG та CCxCC була достовірною ($p < 0,05$) і склала 0,8 та 2,2 голів відповідно. У поєднань генотипів GCxGG і GGxGC також відзначається тенденція до підвищення збереженості поросят до відлучення у порівнянні з поєднанням GCxGC на 2,3 % і 7,1 % відповідно.

Таким чином, на збереженість поросят впливають як генотип матері, так і генотип батька. Встановлено, що найвищу збереженість поросят на 21 день підсисного періоду на більше ніж 93 % забезпечує поєднання гомозиготних батьківських форм із генотипомами GG за геном *MUC4*, а також маток та плідників відповідно із генотипом AA і AG за геном *FUT1*.

Присутність у генотипі одного з батьків алеля C знижує збереженість молодняку, але кількість поросят до відлучення при цьому достовірно не змінюється за рахунок вищої багатоплідності. Виходячи з цього, ми рекомендуємо проводити генетичне тестування з визначення поліморфізму генів *FUT1* і *MUC4* серед батьківських форм свиней селекції ДСГІ внутрішньопородного типу української м'ясної породи. Підбір батьківських пар за геном *MUC4* необхідно проводити, віддаючи перевагу тваринам, що мають у генотипі тільки алель G.

Стосовно підбору пар за геном *FUT1* слід, враховуючи низьку частоту бажаного алеля A, надавати перевагу тваринам, що несуть у своєму генотипі хоча б один такий алель, виключаючи поєднання генотипів GG x GG.

Висновки до розділу 3.7

1. Встановлено, що потомство, одержане від свиноматок із генотипом GG за геном *MUC4* із достовірністю $p < 0,01$ мало вищий показник збереженості при відлученні в порівнянні з таким, що було одержане від свиноматок з генотипами CG та CC на 5,7% і 23% відповідно.
2. Потомство, одержане від свиноматок з генотипом AA за геном *FUT1*, із достовірністю $p < 0,05$ мало вищий показник збереженості при відлученні в порівнянні з таким, що було отримане від свиноматок з генотипами AG та GG на 11,4% і 16,9 відповідно.
3. За наявності алеля A гена *FUT1* у генотипі як матері, так і батька (AA х AG і AG х AG) збереженість поросят достовірно ($p < 0,05$) підвищувалася на 23,2 % і 19,9 % у порівнянні з іншими генотипами.
4. У потомстві, одержаному від батьківських форм із генотипами GG гена *MUC4*, було виявлено підвищення збереженості поросят до відлучення у порівнянні з тваринами, отриманими від батьківських пар, у яких одна або обидві батьківські форми мають генотип GC, у середньому на 5,5 %, а тваринами з генотипом CC — на 23,8 %.

3.8. Виявлення *E. coli* та ентеробактерій у кишківнику свиней.

Загальновідомо, що збудниками колібактеріозу є ешерихії *Escherichia coli* (*E. coli*), які належать до роду *Escherichia*, родини *Enterobacteriaceae* ентеробактерій. Ешерихії є типовими умовно патогенними мікроорганізмами. Природнім місцем існування цих ентеробактерій є вміст товстої кишки тварин та людини. У менших кількостях ешерихії локалізуються в тонкій кишці. Їх наявність у товстій кишці в незначній кількості не викликає розвитку патологічних процесів.

Ешерихії разом з іншими мікроорганізмами, що належать до нормальної мікрофлори, викликають постійне антигенне подразнення системи місцевого імунітету, що сприяє підтриманню її фізіологічно активного стану.

Незважаючи на те, що ешерихії є невід'ємною частиною нормальної мікрофлори кишок, їх питома вага у виникненні кишкових захворювань залишається достатньо високою.

Патогенні властивості ешерихій проявляються лише за певних умов: 1) у разі домінування їх чисельності над іншими представниками облігатної мікрофлори; 2) під час зниження загальної резистентності макроорганізму в результаті впливу на нього окремих стрес-факторів.

Патогенність ешерихій зумовлена їх біологічними властивостями. Зокрема, показником патогенності ешерихій є наявність у виділених культурах адгезивного антигена та здатність до утворення ентеротоксинів.

Із проб фекалій від дванадцяти клінічно здорових свиноматок виділили від 45 до 72 колоній *E. coli* на чашку; від десяти клінічно здорових поросят віком 5–12 днів виявлено від 21 до 43 колоній ешерихій, а з проб фекалій від вісімнадцяти поросят віком 5–12 днів з ознаками діареї виявлена кількість колоній ешерихій коливалась у діапазоні 36–67 одиниць.

Частота виділення ешерихій з фекалій свиней наведена у таблиці 24.

Із даних таблиці видно, що колонії *E. coli* виділили з проб від 58,3% досліджених клінічно здорових свиноматок, від 20,0% клінічно здорових поросят віком 5–12 днів та з проб фекалій від 44,5% поросят віком 5–12 днів з ознаками діареї.

Таблиця 3.19

Наявність ентеробактерій у досліджуваних зразках випорожнень свиней

Група тварин	Кількість проб	Колоній на чашку	Кількість проб з яких виділено <i>E. coli</i> O157
Клінічно здорові свиноматки	12	45–72	58,3 %
Поросята 5–12 днів із проявами діареї	18	36–67	44,5 %
Клінічно здорові поросята 5–12 днів	10	21–43	20,0 %

У поросят із проявами діареї клінічна картина супроводжувалася набряком (5 тварин), загальним виснаженням (8 тварин), кон'юнктивітом (2 тварини). Випорожнення усіх хворих тварин рідкі з пухирцями газу.

У досліджуваний період жива маса поросят у різних групах змінювалась по-різному. У групі клінічно здорових тварин усі поросята набирали масу, у той час як серед хворих поросят вона залишалася незмінною або зменшувалася (табл. 3.20).

При народженні й на 5 день жива маса поросят статистично не відрізнялася, хоча виявлена тенденція до збільшення середньодобових приростів у період до 5-денного віку в клінічно здорових поросят.

Таблиця 3.20

Жива вага поросят у досліджуваний період

Група тварин	Кількість поросят, (гол.)	Жива маса					
		при народженні		5 день		12 день	
		кг	C_v^0 , %	кг	C_v^5 , %	кг	C_v^{10} , %
Клінічно здорові поросята	10	$1,05 \pm 0,02$	18,34	$2,02 \pm 0,05$	22,87	$2,89 \pm 0,05^*$	26,35
Поросята із проявами діареї	18	$1,06 \pm 0,02$	17,68	$1,98 \pm 0,05$	22,95	$2,01 \pm 0,06^*$	24,60

Примітка: * $p < 0,05$

На 12 день середня маса хворих поросят була меншою на 30,45% у порівнянні із такою у здорових особин.

На момент відлучення (21 день) серед хворих тварин залишилось лише 8 поросят, усі інші загинули. У той час як серед тварин без проявів діареї загинуло лише одне порося, що було задавлено свиноматкою.

Виявлено певні закономірності в розподілі генотипів за генами *FUT1* та *MUC4* серед хворих та клінічно здорових тварин (табл. 3.21).

**Розподіл генотипів сукупних генотипів за генами *FUT1* та *MUC4* у
клінічно здорових поросят та із проявами діареї**

Група тварин	Кількість поросят, (гол.)	Генотип								
		AAGG	AAGC	AACC	AGGG	AGGC	AGCC	GGGG	GGGC	GGCC
Клінічно здорові поросята	10	–	–	–	2	4	1	3	–	–
Поросята із проявами діареї	18	–	–	–	–	–	3	2	5	8

Здебільшого хворі тварини представлені чутливим до колібактеріозу генотипом GGCC (*FUT1* — GG, *MUC4* — CC), у той час як серед клінічно здорових поросят найбільшу частку складають гетерозиготні особини з генотипом AGGC (*FUT1* — GG, *MUC4* — CC). Генотипи AAGG, AAGC та AACC у досліджуваних тварин відсутні, що пов'язано із загальною низькою концентрацією алеля A за геном *FUT1* у досліджуваній популяції.

Нижча частота виявлення ентеропатогених *E. coli* O157 у клінічно здорових поросят без ознак діареї може свідчити про генетичну зумовленість процесу інфікування бактеріями за рахунок наявності алелів стійкості до колібактеріозу за генами *FUT1* та *MUC4*.

Втрати поросят у групі з ознаками колібактеріозу склали близько 56%, а в цілому серед досліджуваних тварин — близько 39%, що збігається із літературними даними [3, 4].

Сукупні генотипи поросят із ознаками колібактеріозу представлені на 44,4% чутливими гомозиготами (GGCC), на 44,4% — генотипами, що містять лише один бажаний алель (AGCC та GGGC) за обома досліджуваними генами, а всі інші особини цієї групи представлені генотипом GGGG, що є гомозиготним чутливим за геном *FUT1* та гомозиготним стійким за геном *MUC4*.

Генотипи клінічно здорових поросят здебільшого містять по два бажаних алелі досліджуваних генів: гетерозиготний за обома генами генотип AGGC — 40%, GGGG гомозиготний чутливий за геном *FUT1* та гомозиготний стійкий за геном *MUC4* — 30%. Генотип AGGG із трьома бажаними алелями генів *FUT1* та *MUC4* склав 20% від загальної чисельності клінічно здорових поросят, у той час як генотип AGCC, що містить лише один бажаний алель, виявлено з частотою 10% (1 особина).

Висновки до розділу 3.8

1. Проведення мікробіологічних досліджень посліду свиноматок, а також поросят-сисунів на наявність *E. coli* виявило, що навіть клінічно здорові свиноматки можуть бути носіями збудника діареї в поросят.

2. Відхід поросят за підсисний період у цілому в досліді становив близько 39%, а серед групи поросят із ознаками колібактеріозу — близько 56%.

3. Розподіл генотипів за генами *FUT1* та *MUC4* серед груп клінічно здорових поросят та поросят із діареєю свідчить про наявність взаємозв'язку алельних форм генів *FUT1* і *MUC4* із схильністю поросят до захворювань, викликаних ентеропатогенними *E. coli*.

РОЗДІЛ 4

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Внутрішньопопуляційний тип свиней селекції Дніпропетровського сільськогосподарського інституту (ДСГІ) української м'ясної породи створено шляхом тривалої племінної роботи з використанням складного відтворювального схрещування великої білої породи свиней, беркшир і ландрас із застосуванням різних ступенів інбридингу і жорсткого бракування. Генеалогія популяції представлена трьома лініями і чотирма родинами [81].

Впродовж 1986-2009 р.р. Сметаніним В.Т. розроблено концепцію збереження генетичної мінливості в закритих локальних популяціях свиней на основі генетико-популяційних досліджень. Подальший розвиток цих досліджень базується на введенні в аналіз генофонду нових маркерних систем, у тому числі генів господарськи корисних ознак (QTL).

Важливою проблемою на сучасному етапі розвитку свинарства залишається розробка систем заходів, метою яких є підвищення резистентності молодняку до кишкових інфекцій. Практика зоотехнії показує, що традиційних санітарно-ветеринарних заходів у боротьбі з інфекційними хворобами тварин недостатньо. Зокрема, з огляду на значні щорічні втрати поголів'я свиней від набрякової хвороби і післявідлучної діареї поросят, викликані ентеропатогенними *E. coli*, першочерговим завданням промислового свинарства є попередження та подолання наслідків цих захворювань [176].

Загальновідомо, що інтенсивна система вирощування й використання сільськогосподарських тварин є невід'ємною частиною виробництва продукції тваринництва. Однак багатовікова односпрямована селекція на продуктивність супроводжувалась поступовим зниженням природної резистентності, розповсюдженістю захворюваності тварин. Тому

щонайменше недотримання норм технології годівлі, утримання та моціону тварин може негативно вплинути на вихід товарної продукції.

Особливо актуальна проблема інфекційних захворювань, більшість з яких спричинені господарською діяльністю людини й пов'язані з появою нових форм стійких до антибіотиків штамів – збудників захворювань, погіршенням стану навколишнього середовища.

Як показує практика, застосування лише зооветеринарних заходів боротьби з хворобами недостатньо, тому необхідно використовувати селекційно-генетичні методи підвищення стійкості тварин, що пов'язані з успадкуванням бажаних алельних варіантів у генофонді стада.

Серед безлічі вже розроблених систем виявлення й використання генетичної резистентності тварин до найбільш поширених захворювань особливе значення мають методи молекулярної генетики в поєднанні з традиційною зоотехнією [5, 6, 51, 69].

Випуск якісної свинини залежить від використання синтетичних стимуляторів росту, антибіотиків, антиоксидантів хімічного походження та інших препаратів, які широко рекламуються на кормовому ринку України. Хоча б часткова відмова від зазначених препаратів може знизити ефективність технології виробництва свинини й зробити галузь нерентабельною. На жаль, залежність виробництва від таких впливів дуже велика. За останнє десятиріччя виховано ціле покоління фахівців, технологів, керівників господарств та галузі, які не сприймають іншого підходу до виробництва.

Альтернативою може стати використання сучасних популяційно-генетичних методів, заснованих на маркер-залежній селекції тварин на стійкість до інфекційних хвороб різної етіології.

Нами оцінено генофонд локальної популяції свиней селекції Дніпропетровського СГІ за генами стійкості до патогенних *E. coli*, різні генотипи яких забезпечують неоднакову норму реакції щодо інфікування. Це дало змогу отримати тварин із підвищеною резистентністю до патогенної кишкової мікрофлори.

У цілому популяція свиней селекції ДСГІ характеризується зниженою частотою 0,29 бажаного алеля А за геном *FUT1*. В інбредній групі тварин частота бажаного алеля А на 0,09 нижче, ніж серед усіх тварин з визначеними генотипами. Для тварин аутбредних та інбредних груп розподіл частот алелів і генотипів за геном *FUT1* помітно різниться. Серед інбредних тварин переважає генотип GG (0,71), а серед аутбредних — AG (0,63). Частота алелів у інбредних тварин зміщена на $0,09 \div 0,14$ у бік небажаного G щодо інших досліджуваних груп. Слід зазначити, що розподіл генотипів за геном *FUT1* серед плідників і маток близький до показників по стаду в цілому.

На сьогодні серед країн Східної Європи найбільш повно досліджений поліморфізм гена *FUT1* у популяціях свиней великої білої породи. При цьому концентрація бажаного алеля А знаходиться в діапазоні 0,13–0,24, що можна порівняти з даними, отриманими в нашому дослідженні [47, 48, 51]. Ця тенденція розподілу алельних варіантів характерна для комерційних порід велика біла, ландрас, дюрок та п'єтрен, що розводяться в Центральній і Західній Європі [174]. Однак у популяціях деяких локальних порід Польщі і Чехії кількість тварин з генотипом AA гена *FUT1* досягає 35,5% (злотницька плямиста) і 83,6% (пржештицька чорно-ряба) [174, 226]. Згідно з проведеними в КНР дослідженнями [104, 242] більшість місцевих порід свиней і популяція дикого азійського кабана не мають мутації $G \rightarrow A$ послідовності гена *FUT1* в позиції 307 п.н. Дані щодо поширеності різних алелів та генотипів гена *FUT1* серед порід свиней наведені в таблиці 4.1.

Встановлено, що досліджувана популяція характеризується високим рівнем поліморфізму за геном *MUC4*. Значна частина тварин стада представлена генотипом GG, асоційованим зі стійкістю молодняку до кишкових розладів, викликаних патогенними *E. coli*. Слід зазначити, що для інбредної лінії свиней української м'ясної породи, тип селекції ДСГІ, характерна висока концентрація алеля G — 0,72 і відсутність тварин з небажаним генотипом CC.

**Приклади поширення алелів та генотипів гена *FUT1* серед
популяцій свиней (G→A 307 п.н.)**

Порода свиней	Дослідник, рік публікації, країна	FUT1				
		Частоти алелів		Частоти генотипів		
		A	G	AA	AG	GG
Українська м'ясна (тип ДСГІ)	-	0,29	0,71	0,06	0,46	0,48
Білоруська м'ясна	Епишко Т.И., 2011, Білорусь	0,28	0,72	-	-	-
Дюрок		0,33	0,67	-	-	-
Ландрас		0,08	0,92	-	-	-
Йоркшир		0,17	0,83	-	-	-
Велика біла (англійська)	Костюнина О.В., 2016, Білорусь	0,13	0,87	0,06	0,34	0,60
Ландрас		0,26	0,74	0,06	0,40	0,54
Дюрок		0,4	0,6	0,22	0,36	0,42
Білоруська м'ясна	Коновалова Е.Н., 2004, Білорусь	0,35	0,65	-	-	-
Велика біла	Коновал О.М., 2008 Україна	0,22	0,78	0,07	0,29	0,64
Пржештицька чорно-ряба	Vrtková I, 2007, Чехія	0,876	0,124	0,836	0,164	0
Злотницька плямиста	Klukowska J, 1999, Польща	0,63	0,47	0,355	0,55	0,095
Українська велика біла тип 1	Рудоман Г.С., 2014, Україна	0,320	0,680	0,04	0,56	0,40
Велика біла (англійська)		0,28	0,72	-	0,56	0,40
Азійський дикий кабан	Бао W.B., 2008, Китай	-	1,0	-	-	1,0

Відповідно до досліджень основних європейських порід свиней наявність поліморфізму гена *MUC4* встановлено, що генотип GG рідко зустрічається у тварин породи ландрас (0,2%) і йоркшир (20%), а найбільш часто у породи дюрок — 88,3% і гемпшир — 97,9% [170, 226].

Дані щодо поширеності різних алелів та генотипів гена *MUC4* серед порід свиней наведені в таблиці 4.2.

**Приклади поширення алелів та генотипів гена *MUC4* серед
популяцій свиней (G→C 1849 п.н.)**

Порода свиней	Дослідник, рік публікації, країна	MUC4				
		Частоти алелів		Частоти генотипів		
		G	C	GG	GC	CC
Українська м'ясна (тип ДСГІ)	-	0,58	0,42	0,30	0,57	0,13
Пржешицька чорно-ряба	Vrtková I, 2007, Чехія	0,8	0,2	0,60	0,4	0
Українська велика біла Тип 1	Рудоман Г.С., 2014, Україна	0,670	0,330	0,449	0,442	0,109
Велика біла (англійська)		0,550	0,450	0,303	0,495	0,202
Миргородська		0,795	0,105	0,59	0,41	-
Білоруська чорно- ряба	Костюнина О.В., 2016, Білорусь	0,38	0,62	0,06	0,64	0,30
Дюрок	Jorgensen C.B, 2005, Швеція	0,942	0,058	0,883	0,117	-
Гемпшир		0,99	0,01	0,979	0,021	-
Ландрас		0,09	0,91	0,020	0,137	0,843
Йоркшир		0,26	0,74	0,20	0,68	0,12

Вкрай низька концентрація генотипів AA за геном FUT1 в популяції зумовлює відсутність варіантів генотипів AAGG і AACC, а генотип AAGC зустрічається з частотою 0,06 (4 особи). Однак близько 1/3 усіх тварин є гетерозиготними за обома генами, що дозволяє проводити їх подальше схрещування для отримання гомозиготних нащадків за алелями A і G, відповідно генів *FUT1* і *MUC4*. А схрещування батьківських форм із генотипами AAGC і AGGG дозволяє вже в першому поколінні отримати ½ нащадків із найбільш сприятливим поєднанням алелів (AAGG).

Для всієї популяції, а також в групах маток і плідників за геном *FUT1* характерне невелике перевищення значень спостереженої гетерозиготності в порівнянні з очікуваною. Однак для інбредної групи виявлена більш висока очікувана, ніж спостережена гетерозиготність ($H_E = 0,320$, $H_0 = 0,171$), а для аутбредних тварин спостерігаємо зворотну закономірність ($H_E = 0,448$, $H_0 = 0,643$).

За геном *MUC4* в усіх групах тварин популяції спостережна гетерозиготність вище за очікувану. Найменший індекс фіксації й відповідно селекційне навантаження спостерігається в розрізі групи виробників (-0,026), а найбільший (-0,385) — в інбредній лінії.

Серед усіх досліджуваних генеалогічних груп популяції характерний поліморфізм за генами *FUT1* і *MUC4*. У родинах Вольниці за обома генами, а Степової — за геном *MUC4* виявлені лише чутливі до колібактеріозу гетерозиготи. Родина Гордої за досліджуваними генами представлена трьома можливими генотипами. За геном *FUT1* у родинах Степової і Победи присутні лише чутливі гетерозиготи (генотип AG) й гомозиготи (генотип GG).

Генотип AA (ген *FUT1*), який зумовлює стійкість до патогенних *E. coli*, виявлено лише у тварин родини Гордої з частотою 0,07. У родинах Гордої і Победи виявлені всі три генотипи гена *MUC4*. Частота генотипу GC гена *MUC4* склала відповідно 0,56 і 0,46 в родинах Гордої і Победи, а генотип GG зустрічається із частотою 0,31 в обох родинах.

У плідників селекції ДСПГ за геном *FUT1* тільки в лінії Бистрого зустрічаються тварини з генотипом AA із частотою 0,10. Концентрація генотипу AG (чутливі гетерозиготи) серед ліній популяції така: Борець — 0,53, Бистрий — 0,38, Оріх — 0,75. Небажані генотипи GG чутливих гомозигот присутні з частотою 0,47, 0,52 і 0,25 серед ліній Борця, Бистрого і Оріха відповідно. За геном *MUC4* плідники з небажаним генотипом CC серед ліній Бистрого, Борця і Оріха спостерігаються з частотою 0,10, 0,15 і 0,25, а кількість гетерозигот GC відповідно становить 0,60, 0,53 і 0,75. Частота бажаного генотипу GG гена *MUC4* у лініях Борця і Бистрого — 0,32 і 0,30.

Вивчення впливу генотипу батьківських форм на темпи росту поросят у період від народження до 21 доби виявило залежність збереженості поросят від генотипів плідників та маток. За наявності алеля А (ген *FUT1*) в генотипі як матері, так і батька (АА х АГ і АГ х АГ) збереженість поросят достовірно ($P < 0,05$) підвищувалася на 14,5 і 14,0%. При спарюванні маток і плідників з генотипами GG за геном *MUC4* було виявлено підвищення збереженості поросят до відлучення в порівнянні з тваринами, що мають генотипи GC, на 7,0%, а тваринами з генотипом CC — на 23,1 %.

При застосуванні традиційних селекційних заходів з відтворення поголів'я за допомогою отримання гібридів української м'ясної та великої білої породи свиней вдалося досягнути досить високих показників живонародженості, великоплідності та збереженості поросят. До 21 дня збереженість у помісей була більшою на 9,2–11,5%, ніж у поросят чистопородних поросят великої білої та української м'ясної породи. Однак такі методи відтворення можна застосовувати при заводському способі розведення, коли є досить генетичного матеріалу різноманітних порід.

В абсолютних значеннях при схрещуванні свиней великої білої породи та свиней української м'ясної збереженість на 21 день склала до 90,64 %. При схрещуванні тварин із найбажанішими генотипами за генами *FUT1* (ААхАГ) та *MUC4* (GGхGG) збереженість поросят на 21 день склала 93,4 %. В обох експериментах багатоплідність складала приблизно 10 голів на одну свиноматку, що свідчить про відсутність негативного впливу генів стійкості до колібактеріозу на репродуктивні якості батьківських форм.

Порівнюючи дані традиційного методу відтворення та відтворення за допомогою методів маркер-залежної селекції, приходимо до висновку, що при обмеженій кількості генетичного матеріалу можливо досить ефективно підтримувати сталість породних характеристик у закритих популяціях, прикладом якої є популяція свиней української м'ясної породи типу селекції ДСГІ.

За результатами наших досліджень пропонуються схеми підбору для зниження захворюваності поросят на колібактеріоз (рис. 4.15, 4.16).

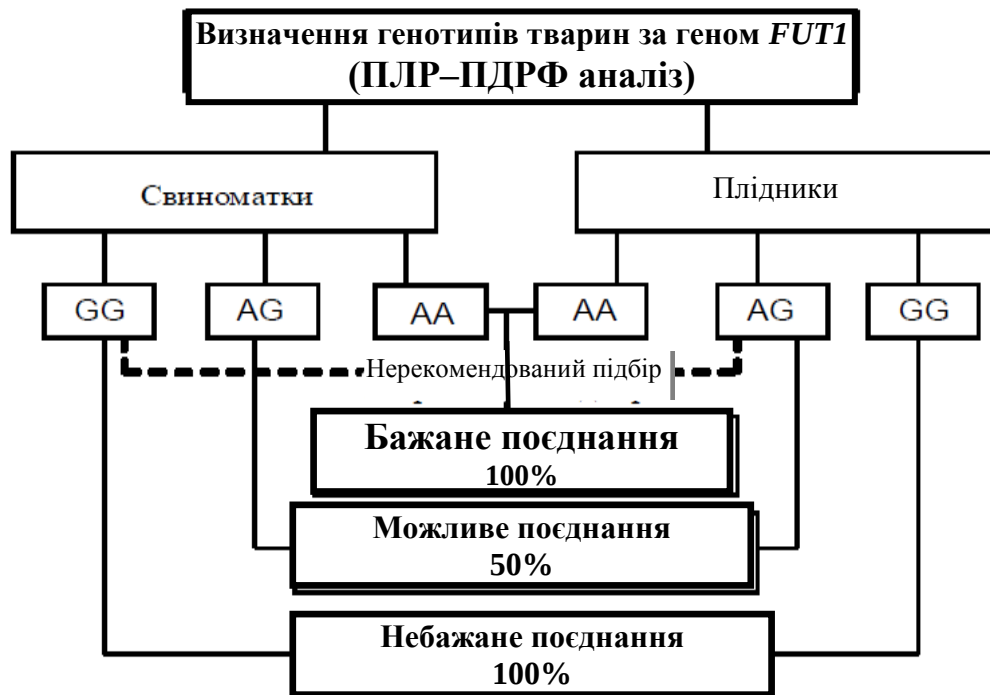


Рис. 4.15. Схеми підбору для профілактики захворюваності поросят на колібактеріоз за геном *FUT1*.

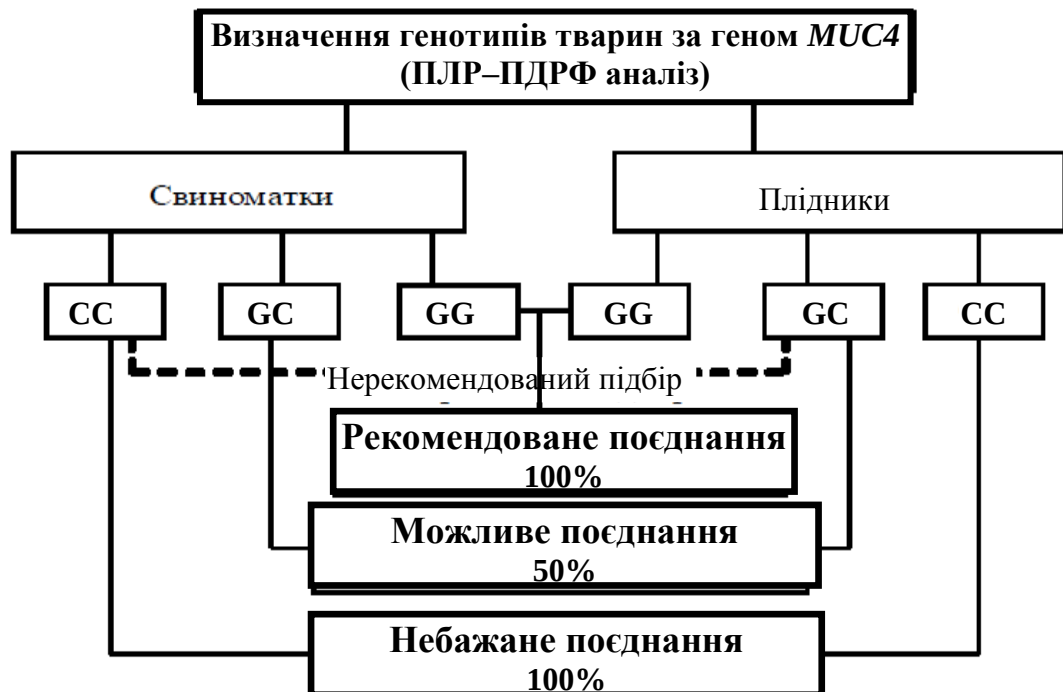


Рис. 4.16. Схеми підбору для профілактики захворюваності поросят на колібактеріоз за геном *MUC4*.

Загальну схему підбору, що враховує бажаність поєднання батьківських генотипів за генами *FUT1* і *MUC4* представлено на рисунку 4.17.

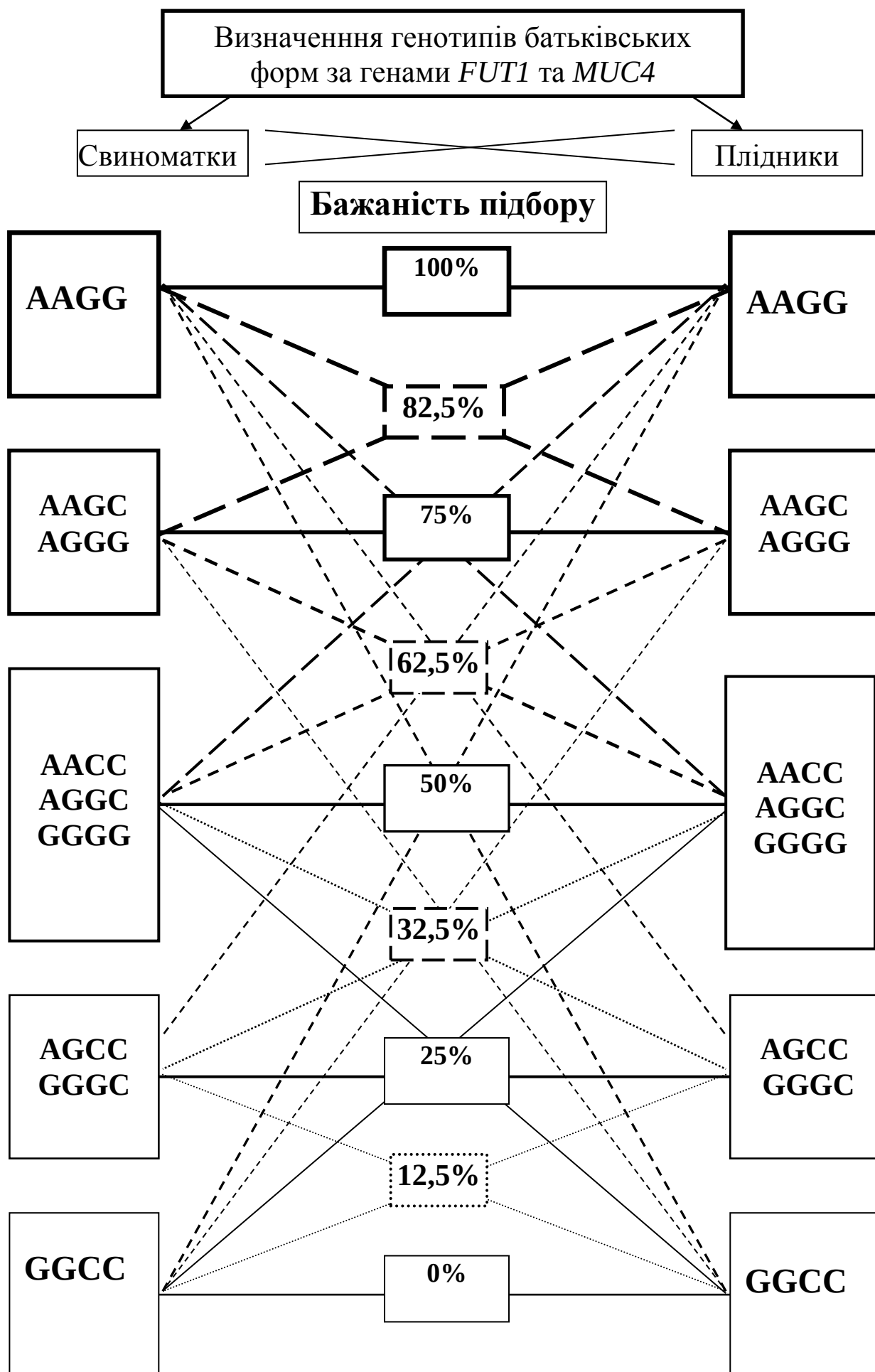


Рис 4.17. Схема підбору батьківських форм, що враховує бажаність поєднання алелів за генами *FUT1* та *MUC4*

У наш час ветеринарна генетика є важливим і перспективним напрямом у вдосконаленні сільськогосподарських порід тварин. В умовах широкого розповсюдження штучного запліднення та використання обмеженого числа плідників, а також у зв'язку з необхідністю збереження генофонду локальних порід і порід, що зникають, проте мають унікальні адаптаційні властивості, селекція на підвищення резистентності тварин має особливе значення. Крім того, створення стад і стійких до хвороб порід, які мають високу життєздатність, — це шлях до екологічно безпечних технологій, що запобігають забрудненню навколишнього середовища лікарськими препаратами, санітарними засобами й зменшують зараження середовища хвороботворними вірусами, бактеріями та іншими патогенами, які можуть вплинути також і на здоров'я людей.

РОЗДІЛ 5**УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ**

У поданій роботі наведені результати молекулярно–генетичних досліджень поліморфізму генів *FUT1* і *MUC4* та їх впливу на показники продуктивності в популяції свиней селекції Дніпропетровського сільськогосподарського інституту (ДСГІ).

Тварини селекції ДСГІ є унікальною за історією формування із тривалим шляхом племінної роботи з використанням складного відтворювального схрещування великої білої породи свиней, беркшир і ландрас із застосуванням різних ступенів інбридингу і жорсткого бракування. Генеалогія популяції представлена трьома лініями й чотирма родинами. (Сметанін, 2005).

Пошук та використання ДНК–маркерів дозволяють виокремити певні господарськи корисні ознаки, виявити точкові мутації, визначати їх вплив на тварин та вести спрямовану селекцію. Дослідження тварин за генами кількісних ознак (Quantitative Trait Loci) дає можливість передбачати господарську цінність тварини на рівні ДНК у ранньому віці і навіть ще до її народження. Метод вивчення потенційних генів господарськи корисних ознак широко використовується в сучасній зооінженерії як процедура ідентифікації генів з важливими фенотиповими проявами і їх використанням у програмах генетичного покращення. Поряд із традиційними методами добору та підбору тварин селекція за генотипом сприяє швидкому введенню до генофонду популяції бажаних алелів генів, що дозволяє значно підвищити ефективність селекції.

В Україні проблема підвищення життєздатності новонародженого молодняку свиней залишається гострою та вимагає негайного вирішення. Однією з основних причин, що викликають зниження збереженості поросят, є шлунково-кишкові захворювання, зумовлені колібактеріозом, збудником якого є ентеротоксичні бактерії *Escherichia coli*. Практика зоотехнії показує, що традиційних санітарно-ветеринарних заходів у боротьбі з інфекційними

хворобами тварин недостатньо. Зокрема, з огляду на значні щорічні втрати поголів'я свиней від набрякової хвороби і послявідлучної діареї поросят, що викликано ентеропатогенними *E. coli*, першочерговим завданням промислового свинарства є попередження та подолання наслідків цих захворювань.

До факторів, що впливають на процес інфікування тварин патогенними *E. coli* відносять сіалоглікопротеїн слизу кишківника муцин 4 (*MUC4*) і фукозилуючий фермент α -фукозилтрансфераза-1 (*FUT1*), які беруть участь в молекулярній взаємодії бактеріальних клітин, що мають фимбрії типу *F4* і *F18* з клітинами епітелію кишківника поросят. Поліморфізм послідовностей генів *MUC4* і *FUT1* свиней зі свого боку має вплив на характеристики продуктів їх експресії. Трансверсія $G \rightarrow C$ у позиції 1849 п.н. гена *MUC4* призводить до синтезу муцина 4, який не адсорбує патогенні *E. coli*. Транзиція $G \rightarrow A$ у позиції 307 п.н. гена *FUT1* призводить до надсинтезу α -фукозилтрансферази-1, що конкурентно блокує рецептори для клітин бактерій на поверхні ентероцитів. Гени *MUC4* і *FUT1* є діалельними кодомінантними системами.

На прикладі локальної місцевої популяції свиней внутрішньопородного типу селекції ДСГІ української м'ясної породи представлено практичне застосування поліморфізму генів *FUT1* і *MUC4*.

Проведено оцінку розподілу бажаних генотипів у лініях і родинах досліджуваної популяції, що розраховано на виявлення найбільш перспективних для селекції генеалогічних структур на стійкість до колібактеріозу.

Виділення ДНК здійснювали з проб плям крові й щетини тварин у присутності іонообмінної смоли Chelex-100. Оцінку генотипів тварин за генами *FUT1* і *MUC4* проводили в лабораторії генетики Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН за допомогою методу ПЛР-ПДРФ. ПЛР проводили в стандартній реакційній суміші (Taqotili, Росія) в ампліфікаторі «Терцик2 («ДНК-Технология», Росія) за програмою: 94°C -

5 хв.; 35 циклів: 94 °C — 40 с; 60°C — 40 с; 72 °C — 60 с, і 72 °C — 5 хв. для послідовностей *MUC4* і *FUT1*.

Для ідентифікації фрагмента гена *FUT1* розміром 161 п.н. використовували праймери: прямий 5'-CCAACGCCTCCGATTCCTGT-3', зворотний 5'-GTGCATGGCAGGCTGGATGA-3'. Для ідентифікації фрагмента гена *MUC4* розміром 367 п.н. використовували праймери: прямий 5'-GTGCCTTGGGTGAGAGGTTA-3', зворотний 5'-ACTCTGCCGTTCTCTTTCC-3'.

Синтезовані в результаті ПЛР фрагменти гена *FUT1* розщеплювали ендонуклеазою *HinPI* і фрагменти гена *MUC4* — ендонуклеазою *XbaI*, в умовах, рекомендованих фірмою — виробником (Fermentas, Литва).

Аналіз фрагментів рестрикції проводили за допомогою електрофорезу в 8% поліакриламідному гелі. Візуалізацію проводили шляхом фарбування поліакриламідного гелю етидієм бромідом із подальшим переглядом в ультрафіолетовому світлі на транслюмінаторі.

За результатами проведення ПЛР-ПДРФ аналізу ДНК свиней за генами *FUT1* та *MUC4* перевірено специфічність роботи праймерів та ферментів рестрикції.

Встановлено відповідність фрагментів рестрикції при розщепленні продуктів ампліфікації гена *FUT1* за допомогою ферментів *HgaI* і *HspAI*. Для проведення рестрикційного аналізу можливо з однаковою ефективністю використовувати обидва ферменти.

За допомогою ДНК-маркування виявлено генетичний поліморфізм генів *FUT1* і *MUC4* серед усіх досліджуваних груп тварин популяції. У цілому популяція свиней селекції ДСПІ характеризується зниженою частотою 0,29 бажаного алеля А за геном *FUT1*. В інбредній групі тварин частота бажаного алеля А на 0,09 нижча, ніж серед усіх тварин з визначеними генотипами. Для тварин аутбредних та інбредних груп розподіл частот алелів і генотипів за геном *FUT1* помітно різниться. Серед інбредних тварин переважає генотип GG (0,71), а серед аутбредних — AG (0,63).

Найбільш повно досліджений поліморфізм гена *FUT1* у популяціях свиней у країнах Європи. При цьому концентрація бажаного алеля А знаходиться в діапазоні 0,13–0,24, що можна порівняти з даними, отриманими в нашому дослідженні [50, 51, 57, 72, 116, 176]. Однак у популяціях деяких локальних порід Польщі й Чехії кількість тварин з генотипом АА гена *FUT1* досягає 35,5% (злотницька плямиста) і 83,6% (пржештицька чорно-ряба) [174, 226]. Згідно з проведеними в КНР дослідженнями [104, 105, 242] більшість місцевих порід свиней і популяція дикого азійського кабана не мають мутації $G \rightarrow A$ послідовності гена *FUT1* в позиції 307 п.н.

Досліджувана популяція свиней характеризується високим рівнем поліморфізму за геном *MUC4*. Значну частину тварин стада складає генотип GG. Слід зазначити, що для інбредної лінії свиней української м'ясної породи, тип селекції ДСГІ, характерна висока концентрація алеля G — 0,72 і відсутність тварин з небажаним генотипом CC.

Породи свиней європейської селекції характеризуються високою варіабельністю поліморфізму за геном *MUC4*. Наприклад, генотип GG рідко зустрічається у тварин породи ландрас (0,2%) і йоркшир (20%). А найбільш часто – у порід дюррок 88,3% і гемпшир 97,9% [170, 226].

Дуже низька концентрації генотипів АА за геном *FUT1* в популяції зумовлює відсутність варіантів генотипів ААGG і ААСС, а генотип ААGC зустрічається з частотою 0,06 (4 особи). Однак близько 1/3 усіх тварин є гетерозиготними за обома генами, що дозволяє проводити їх подальше схрещування для отримання гомозиготних нащадків за алелями А і G відповідно генів *FUT1* і *MUC4*. Схрещування батьківських форм із генотипами ААGC і АGGG дозволяє вже в першому поколінні отримати $\frac{1}{2}$ нащадків із найбільш сприятливим поєднанням алелів (ААGG).

Для всієї популяції, а також в групах маток і плідників за геном *FUT1* характерне невелике перевищення значень спостереженої гетерозиготності в порівнянні з очікуваною. Однак для інбредної групи виявлена більш висока очікувана, ніж спостережена гетерозиготність ($H_E = 0,320$, $H_0 = 0,171$), а для

аутбредних тварин спостерігаємо зворотну закономірність ($H_E = 0,448$, $H_0 = 0,643$).

Спостережна гетерозиготність за геном *MUC4* в усіх групах тварин популяції вища за очікувану. Найменший індекс фіксації й відповідно селекційне навантаження спостерігається в розрізі групи плідників (-0,026), а найбільший (-0,385) – в інбредній лінії.

Поліморфізм за генами *FUT1* і *MUC4* спостерігається серед усіх досліджуваних генеалогічних груп популяції. Родина Вольниці за обома генами, а Степової – за геном *MUC4* представлені лише чутливими до колибактеріозу гетерозиготами. Родина Гордої за досліджуваними генами представлена трьома можливими генотипами. За геном *FUT1* у родинях Степової і Победи присутні лише чутливі гетерозиготи (генотип AG) і гомозиготи (генотип GG).

Генотип AA (ген *FUT1*), який зумовлює стійкість до патогенних *E. coli*, виявлено лише у тварин родини Гордої з частотою 0,07. У родинях Гордої і Победи виявлені всі три генотипи гена *MUC4*. Частота генотипу GC гена *MUC4* склала відповідно 0,56 і 0,46 у родинях Гордої і Победи, а генотипу GG – 0,31 в обох зазначених родинях.

У плідників селекції ДСПІ за геном *FUT1* тільки в лінії Бистрого зустрічаються тварини з генотипом AA із частотою 0,10. Концентрація генотипу AG (чутливі гетерозиготи) серед ліній популяції становить: Борець – 0,53, Бистрий — 0,38, Оріх — 0,75. Небажані генотипи GG чутливих гомозигот присутні з частотою 0,47, 0,52 і 0,25 серед ліній Борця, Бистрого і Оріха відповідно. За геном *MUC4* плідники з небажаним генотипом CC серед ліній Бистрого, Борця і Оріха спостерігаються з частотою 0,10, 0,15 і 0,25, а кількість гетерозигот GC відповідно становить 0,60, 0,53 і 0,75. Частота бажаного генотипу GG гена *MUC4* у лініях Борця і Бистрого — 0,32 і 0,30.

Поєднання батьківських форм із різними алельними варіантами генів *FUT1* та *MUC4* впливає на темпи росту та збереженості поросят від народження до 21 доби. За наявності алеля А (ген *FUT1*) у генотипі як матері,

так і батька (AA x AG і AG x AG) збереженість поросят достовірно ($P < 0,05$) підвищувалася на 14,5 і 14,0%. При спарюванні маток і плідників з генотипами GG за геном *MUC4* було виявлено підвищення збереженості поросят до відлучення в порівнянні з тваринами, що мають генотипи GC, на 7,0%, а тваринами з генотипом CC — на 23,1 %.

При застосуванні традиційних селекційних заходів із відтворення поголів'я за допомогою отримання гібридів української м'ясної та великої білої породи свиней вдалося досягнути досить високих показників живонародженості, великоплідності та збереженості поросят. До 21 дня збереженість у помісей була на 9,2–11,5% більшою, ніж у чистопородних поросят великої білої та української м'ясної породи.

Порівняння традиційного методу відтворення та відтворення за допомогою методів маркер-залежної селекції із застосуванням маркерних генів *FUT1* та *MUC4* на прикладі популяції свиней української м'ясної породи типу селекції ДСГІ виявило певну тенденцію щодо можливості досить ефективно підтримувати сталість породних характеристик у закритих популяціях за обмеженої кількості генетичного матеріалу.

На підставі викладеного вище можна зробити узагальнювальний висновок про те, що традиційні зооветеринарні заходи в господарствах доцільно поєднувати із генетичними дослідженнями генофонду популяції свиней на наявність бажаних генотипів, стійких до колібактеріозу за маркерними генами *FUT1* та *MUC4* особливо в невеликих фермерських господарствах та племінних репродукторах з розведення локальних та місцевих порід свиней з високою селекційною цінністю тварин.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено особливості генетичної структури за маркерними генами стійкості до колібактеріозу *FUT1* та *MUC4* у закритій популяції свиней внутрішньопородного типу української м'ясної породи. Та вивчено вплив різних генотипів за досліджуваними генами на господарські корисні ознаки тварин в умовах центральної степової зони України.

2. Підібрано оптимальні умови проведення полімеразної ланцюгової реакції і рестрикційного аналізу при дослідженні ДНК свиней на наявність поліморфізму за генами *FUT1* та *MUC4* методом ПЛР-ПДРФ. Встановлено відповідність фрагментів рестрикції при розщепленні продуктів ампліфікації гена *FUT1* за допомогою ферментів *HgaI* і *HspAI*, а гена *MUC4* — за допомогою фермента *XbaI*.

3. Розподіл частот алелів А та G серед у популяції за геном *FUT1* становить 0,29 та 0,71 відповідно, а за геном *MUC4* алелів G — 0,58 та С — 0,42. Досліджувана популяція свиней характеризується вищою фактичною гетерозиготністю за обома генами відносно теоретично розрахованої.

4. У всіх лініях і родинах популяції переважають чутливі гомо- і гетерозиготні генотипи GG і AG за геном *FUT1*. Генотип AA зустрічається тільки в лінії Бистрого (0,10) і родині Гордої (0,07). За геном *MUC4* в усіх генеалогічних елементах популяції переважають чутливі до колібактеріозу гетерозиготні (GC) тварини. У родинах Гордої і Победи та лініях Борця і Бистрого спостерігається перевага числа особин зі стійким генотипом GG над чутливими – CC. Найбільш генетично близькими є лінія Бистрого і родина Вольниці ($I=0,9935$, $D=0,0065$), а максимальна генетична розбіжність спостерігається між родинами Степової і Победи ($I=0,7646$, $D=0,2684$).

5. Свиноматки з генотипом CC гена *MUC4* вірогідно ($P < 0,05$) на 16,0 % і 8,8 % поступалися за збереженістю відлучених поросят у гнізді у порівнянні із генотипами GG та GC. Свиноматки з генотипом AA і AG (*FUT1*) вірогідно ($P < 0,05$) за збереженістю відлучених поросят переважали аналогів з генотипом GG на 10,6 і 8,8% відповідно.

За наявності алеля А (ген *FUT1*) в генотипах плідників та маток (АА х АА і АА х АА) збереженість поросят вірогідно ($P < 0,05$) підвищувалася на 14,5 і 14,0 %. Батьківські форм з генотипами GG гена *MUC4* мали вищу збереженість поросят до відлучення у порівнянні з генотипами GC на 7,0%, а з генотипами CC – на 23,1 %. При застосуванні традиційних селекційних заходів із відтворення поголів'я за допомогою отримання гібридів української м'ясної та великої білої породи свиней вдалося досягнути більшої збереженість у помісей при відлученні на 9,2-11,5% у порівнянні із чистопородними тваринами. Таким чином селекція на стійкість до колібактеріозу може дозволити знизити втрати поросят при промисловому відтворенні поголів'я лише за рахунок власних генетичних ресурсів закритої популяції.

6. Мікробіологічні дослідження посліду свиноматок і поросят на наявність *E. coli* виявили, що клінічно здорові свиноматки можуть бути носіями збудника діареї в поросят. Тварини із проявами колібактеріозу здебільшого представлені чутливим до колібактеріозу генотипом GGCC (*FUT1* — GG, *MUC4* — CC), серед клінічно здорових поросят найбільшу частку складають гетерозиготні особини з генотипом AGGC (*FUT1* — AG, *MUC4* — GC).

7. Запропоновано схему схрещування, що дає можливість наочно оцінити бажаність підбору батьківських форм для схрещування з урахуванням поліморфізму генів *FUT1* та *MUC4* для підвищення стійкості потомства до колібактеріозу, що є особливо актуальним для малих господарств з розведення місцевих та локальних порід свиней з високою селекційною цінністю кожної особини популяції.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Відповідно до міжнародної програми FAO «Глобального плану дій щодо збереження, підтримання та розвитку генетичних ресурсів тварин» у популяціях свиней доцільно проводити постійний молекулярно-генетичний моніторинг генів *FUT1* та *MUC4*.

2. На основі визначення генотипів батьківських форм за генами *FUT1* та *MUC4* необхідно вести роботу зі створення порід, ліній і родин свиней стійких до колібактеріозу за рахунок підбору батьківських форм-носіїв з генотипами AA та AG за геном *FUT1* і генотипами GG та GC за геном *MUC4*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алтухов Ю.П., Салменкова Е. А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике. Генетика. 2002. Т. 38, № 9, С. 1173–1195.
2. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях: учебное пособие для студ. вузов по направлению "Биология" и спец. "Генетика" / Ю.П.Алтухов; отв.ред. Л.А.Животовский. — Изд. 3-е, перераб. и доп. — М.: Академкнига, 2003. — 431 с.
3. Альбертс Б. Молекулярная биология клетки: в 3-х томах / Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис и др. — М. — Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2013 — Т. I. — 808 с.
4. Бажов Г.М. Племенное свиноводство / Г.М. Бажов; М.: Издательство Юрайт, 2019. — 349 с.
5. Балацкий В.Н., Саенко А.М., Гришина Л.П. Полиморфизм локуса рецептора эстрогена 1 в популяциях свиней разных генотипов и его ассоциация с репродуктивными признаками свиноматок крупной белой породы // Цитология и генетика. — 2012. — Т. 46, № 4. — С. 48–54.
6. Балацкий В.Н., Саенко А.М., Пина Р.Н., Буслик Т.В., Гиболенко Е.С. Генетическая дифференциация пород свиней по десяти локусам количественных признаков // Цитология и генетика. — 2015. — Т. 49, №5. — с. 26–37.
7. Банникова А.Д. Полиморфизм ДНК-маркеров, ассоциированных с воспроизводительными качествами, у свиней пород крупная белая и йоркшир. Автореф. дис... канд. биол. наук/ А.Д. Банникова. — Дубровицы, 2012.
8. Баньковская И. Б. Связь полиморфизма генов катепсинов CTSS, CTSL, CTSB, CTSK с показателями качества мяса и сала свиней украинской крупной белой породы / И. Б. Баньковская, В. Н. Балацкий, Т. В. Буслик // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Сборник научных трудов. Горки, 2016. — Вып. 19 (1). — С. 198–204.
9. Березовський М.Д. та ін. Відтворювальні якості свиноматок в системі гібридизації // Свинарство. — 2012. — №. 60. — С. 21–24.
10. Бобкова Г.Н. Инфекционные болезни свиней: диагностика, профилактика и меры борьбы / Бобкова Г.Н., Бобков А.А.: учебно-методическое пособие. — Брянск: Издательство Брянской ГСХА, 2011. — 82 с.

11. Брем Г., Кройслих Х., Штранцингер Г. Экспериментальная генетика в животноводстве // М. — РАСХН, 1995 — 326 с.
12. Бургу Ю. Г. Стан та проблеми розвитку галузі свинарства в Україні // Мережевий бізнес: становлення, проблеми, інновації. Матеріали IX Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції: Полтава, ПУЕТ. — 2019. — С. 222–224.
13. Буркат В. П. Селекція, генетика і біотехнологія у тваринництві України / В. П. Буркат // Місце і роль аграрної науки в процесі розвитку АПК України. — К.: Аграрна наука, 2007. — с. 205–216.
14. Василенко В.Н. Рентабельное высокопродуктивное свиноводство (Селекция, воспроизводство, технология содержания, кормление)/ Василенко В.Н., Богомолов Ю.Г., Капелист И.В. и др.// Ростов-на-Дону: ЗАО "Ростиздат", 2010. — 624с.
15. Васильева Л.А. Введение в генетику количественных признаков животных. — Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2008. — 76 с.
16. Вишневський Л. В. Інформаційна система у тваринництві як складова стратегії збереження біорізноманіття // Розведення і генетика тварин. — 2017. — № 53. — с.15-21.
17. Вовк В. О., Ващенко П. А., Скрипка С. М. Вплив комбінаційної здатності на репродуктивні якості свиней при чистопородному розведенні та схрещуванні // Свинарство: міжвідомчий тематичний науковий збірник. Полтава, 2012. — Вип. 60. — с. 46–49.
18. Войтенко С.Л. Моніторинг ліній, як складових порід у свинарстві / С.Л.Войтенко, Л.В.Вишневський// Міжвід. темат. зб. «Свинарство». — Вип. 65. — 2014. — С.82–88.
19. Геращенко А.Е. Продуктивность свиней разных пород при чистопородном разведении и скрещивании в условиях промышленного комплекса: Автореф. дис. канд. с.-х. наук. — Полтава, 1979. — 184 с.
20. Гетманцева Л.В. Молекулярно-генетические исследования сельскохозяйственных животных методом ПЦР-ПДРФ : учебное пособие / Гетманцева Л.В., Клименко А.И., Василенко В.Н., Колосова М.А., Бакоев Н.Ф.; Донской ГАУ. — Персиановский: Донской ГАУ, 2018. — 119 с.
21. Глазко В. И. Формообразование и микроэволюция: пороодообразование, метаболомика, субгеном // Farm Animals. — 2014. — № 1 (5). — С. 20–33.

22. Глазко В.И. Молекулярная биология для животноводства / В.И. Глазко // FarmAnimals. — 2012. — №1(1). — с. 24–29.
23. Глазко В.И. и др. ISSR-PCR маркеры и мобильные генетические элементы в геномах сельскохозяйственных видов млекопитающих // Сельскохозяйственная биология. — 2013. — № 2. — с. 71–76.
24. Гаффаров, Х. З. Система лечебно-профилактических мероприятий при смешанной инфекционной диарее новорожденных телят и поросят / Х.З. Гаффаров, Г. Н. Спиридонов, М. А. Ефимова // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях. – Воронеж, 2012. – С. 187–188
25. Гетманцева, Л.В. Использование ДНК-маркеров в селекции свиней/ Л.В. Гетманцева, Е.А. Карпенко, Д.В. Чикотин // Перспективное свиноводство. — 2012. — № 1. — с. 20–21.
26. Горин В. Я. Организация и технология производства свинины / Горин В. Я., Карпенко Н. И., Борзенков В. М., Файнов А. А., Походня Г. С. — Белгород: Изд-во «Везелица», 2011. — 704 с.
27. Гришкова А. П. и др. Воспроизводительные качества свиноматок и мясная продуктивность помесного молодняка при различных системах скрещивания //Достижения науки и техники АПК. — 2012. — №. 6. — С. 67–68.
28. Дарьин А.И. Свиноводство: учебное пособие / А.И. Дарьин, В.А. Кокорев. — Пенза: РИО ПГСХА, 2014. — 262 с.
29. Джупина С. И. Профилактика колибактериоза или массовой желудочно-кишечной болезни приплода продуктивных животных // Ветеринарная патология. — 2015. — №. 4. — С. 3–9.
30. Димань Т.М. Полімеразна ланцюгова реакція: метод. рек. / Т.М. Димань, В.І. Глазко. — Біла Церква, 2004. — 62 с.
31. Зайцев В. В. и др. Получение адгезивных антигенов возбудителя колибактериоза *E. coli* //Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. — 2010. — Т. 46, № 1. — С. 79–82.
32. Зацаринин А. А. Мясная продуктивность свиней с использованием специализированных генотипов //Свиноводство. — 2016. — №. 2. — С. 21–23.

33. Зиннатов Ф.Ф., Шакиров Ш. К., Зиннатов Ф.Ф. Воспроизводительные способности свиноматок с различными генотипами генов ECRF18/FUT1, MC4R, ESR, RYR1 // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2015. — №. 4. — С. 176–179.
34. Зиновьева Н.А. Современные генетические методы в селекции свиней, под ред. Зиновьевой Н.А./ Н.А. Зиновьева, А. В. Доцев, А.В. Шахин, К.М. Шавырина, В.Н. Маурчева, Ю.И.Чинаров // Дубовицы: ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии. 2011. — 72с.
35. Зиновьева Н.А. Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных/ Н.А. Зиновьева, О. В. Костюнина, Е.А. Гладырь, А.Д. Банникова, В.Р. Харзинова, П.В. Ларионова, К.М. Шавырина, Л.К. Эрнст// Зоотехния, 2010. — № 1. — с. 8–10.
36. Зиновьева Н.А. Молекулярно-генетические маркеры в свиноводстве/ Н.А. Зиновьева// Свиноферма, 2011. — № 11. — с. 17–19.
37. Зубець М. В., Рубан С. Ю. Система племінної роботи як засіб виробництва при формуванні порід, які відповідають вимогам ринку //Розведення і генетика тварин. — 2010. — №. 44. — с. 3-10.
38. Зубець М.В., Буркат В.П., Мельник Ю.Ф. та ін.; Методологічні аспекти збереження генофонду сільськогосподарських тварин. Наук. ред. І.В.Гузєв. — К.: Аграрна наука, 2007. — 120 с.
39. Зубець М. В. Генетичні маркери в племінному тваринництві України: історичний аспект, методичні засади, перспективи // Геномна селекція у тваринництві: стан та перспективи розвитку: Мат. творч. диск. — 2011. — Т. 19. — С. 36–38.
40. Инструкция по применению набора реагентов для обнаружения ДНК в биологических пробах методом полимеразной цепной реакции / Науч.-произв. фирма "Литех". — М., 2017. — с. 177.
41. Інструкція з бонітування свиней; Інструкція з ведення племінного обліку у свинарстві. — К.: Минагрополітики України. — 2003. — 64 с.
42. Кабанов В. Д., Титов И. В. Воспроизводительные качества свиноматок канадской селекции пород йоркшир, ландрас, дюрок и их помесей // Свиноводство. — 2011. — №. 5. — С. 8–9.

43. Каспирович Д.А. ДНК-маркеры в селекционной практике свиноводства Республики Беларусь //Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук. — 2011. — № 2. — С. 40–46.
44. Каспирович Д. А., Епишко Т. И., Дойлидов В. А. ДНК-маркеры показателей откормочных и мясных качеств свиней //Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук. — 2012. — №. 2. — С. 38–42.
45. Каспирович Д. А. Маркерзависимая селекция в профилактике заболевания свиней отечественных пород колибактериозом / Д. А. Каспирович, В. А. Дойлидов, Н. А. Зиновьева, О. В. Костюнина //Актуальные проблемы сельскохозяйственной биотехнологии: сборник научных трудов. – Учреждение образования "Полесский государственный университет". — Пинск. — 2012. — с. 52–57.
46. Кленовицкий П. М., Багиров В. А., Иолчиев Б. С. Биотехнология в зоотехнии. — Элиста: Изд-во Калмыцкого университета, 2018. — 146 с.
47. Коновалова Е.Н. и др. Изучение полиморфизма гена рецептора E. coli F18/FUT1 и его влияния на хозяйственно–полезные признаки свиней. Развитие ключевых направлений сельскохозяйственной науки в Казахстане: Селекция, биотехнология, генетические ресурсы: Материалы международной конференции. — Алматы: ТОО “Издательство Басту”, 2004. — С. 81–86.
48. Копилов К.В. Поліморфізм генів асоційованих з господарсько корисними ознаками (QTL) у трьох порід великої рогатої худоби / К.В.Копилов // Вісник Сумського національного аграрного університету. — 2010. — Вип.7(17). — с. 51–57.
49. Косовский, Г.Ю. Методические рекомендации по идентификации аллельных вариантов генов, влияющих на хозяйственно-полезные признаки Sus scrofa (свиньи домашней) / Г.Ю. Косовский, С.Д. Мельничук, М.С. Краснов., М.Е. Михайлова, В.Г. Спиридонов, Е.А. Климов, Н.М. Волчок, И.С. Бояринцева, Н.А. Камыш, О.Н. Коновал // М.: Изд-во «Россельхозакадемия». — 2011. — 32 с.
50. Костенко С.О. та ін. Моніторинг великої білої породи за генами господарсько-корисних ознак / С.О. Костенко, О.М. Коновал, М.В. Драгулян О.В. Сидоренко, Л.В. Россоха. // Науково-технічний бюллетень ІТ НААН України. — 2013. — №. 109 (1). — с. 151–159.

51. Костюнина О. В. Характеристика аллелофонда и анализ ассоциаций ДНК-маркеров с хозяйственно-полезными признаками свиней: дис. ... док. биол. наук : 03.02.07 / ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Дубровицы, 2016. 372 с.
52. Кузнецова М. В., Максимова А. В., Карпунина Т. И. Опыт использования Rer-i gard-полимеразной цепной реакции для эпидемиологической характеристики нозокомиальных изолятов *Pseudomonas aeruginosa* //Клиническая лабораторная диагностика. — 2015. — Т. 60. — №. 3.
53. Ларина Е. К., Зацаринин А. А. Система промышленного скрещивания в товарном свиноводстве с использованием специализированных мясных свиней //Фундаментальные и прикладные проблемы повышения продуктивности животных и конкурентоспособности продукции животноводства в современных экономических условиях АПК РФ. — 2015. — с. 44–45.
54. Латыпов Д.Г. Справочник по патологоанатомической диагностике заразных болезней свиней: учебное пособие / Д.Г. Латыпов. —СПб.: Лань, 2019. — 260 с.
55. Лебедько Е.Я., Хохлов А.М., Барановский Д.И., Гетманец О.М. Биометрия в MS Excel: Учебное пособие. — Спб.: Издательство «Лань», 2018. — 172 с.
56. Левченко В.І., Влізло В.В., Кондрахін І.П., Головаха В.І. Клінічна діагностика хвороб тварин. Біла Церква, 2017 — 544 с.
57. Лобан, Н.А. Повышение продуктивных качеств свиней белорусской крупной белой породы с использованием маркерных генов / Н.А. Лобан, О.Я. Василюк, И.П. Шейко // Вести национальной академии наук Белоруссии. – 2011. — №3. — с. 89–95.
58. Луговий С.І. Методологія аналізу генофонду чистопородних і помісних свиней та формування їх продуктивності на основі ДНК-маркерів. – Миколаїв, 2018. — 45 с.
59. Макреди Б. Дж. Обнаружение и идентификация патогенных микроорганизмов молекулярными методами / Б. Дж. Макреди, Д. А. Чимера // Молекулярная клиническая диагностика. Методы. — М., 1999. — с. 35–40.
60. Мельник В.О., Кравченко О. О. Біотехнологія відтворення в племінному свинарстві: монографія //Миколаїв: МНАУ. — 2016. — 192 с.
61. Метлицька О.І. Методологія ДНК-паспортизації генофондів сільськогосподарських тварин за гіперваріабельними локусами геному: дис. док. с.-г. наук: 03.00.15 / ІРГТ НААН України. с.Чубинське, Київська обл., 2012 р. 382 с.

62. Метлицька О. І., Копилов К. В., Березовський О. В. Сучасні молекулярно-генетичні підходи для підвищення ефективності селекційного процесу в тваринництві України // Розведення і генетика тварин. Київ, 2016. — Вип. 51. — с. 193–200.
63. Методичні рекомендації щодо використання методу полімеразної ланцюгової реакції в скотарстві / Р.В. Облап, Н.Б. Новак, М.Д. Мельничук та ін.; за ред. Т.М. Димань. — Біла Церква: Видавництво БНАУ, 2010. — 68 с.
64. Небилиця М. С., Новицький В. П., Миронченко В. Г. Оцінка свиней за власною продуктивністю різними методами // Розведення і генетика тварин. 2013. — Вип. 46. — с. 176–178.
65. Отченашко В.І. Методика дослідної справи: курс лекцій / В. В. Отченашко, Д. П. Уманець. — К.: НУБіП, 2016. — 60 с.
66. Підпала Т. В. Селекція молочної худоби і свиней: навчальний посібник / Т. В. Підпала, С. А. Войналович, В. Г. Назаренко [та ін.]. — Миколаїв: МНАУ. — 2012. — 297 с.
67. Полозюк, О.Н. Теоретическое обоснование и практическое использование ДНК–генотипирования в селекции свиней / О.Н. Полозюк // Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. — Ставрополь. — 2013. — 49 с.
68. Повод Н., Сокрут В., Шаталин Б. Свиньи днепропетровской селекции // Свиноводство. — 1992. — № 5–6. — с. 42–46.
69. Почерняєв Ф.К., Сметанін В.Т. Аналіз локальної популяції свиней із використанням методу ПЛР-ПДРФ мітохондріальної ДНК // Науковий вісник ЛНАВМ ім. С.З. Гжицького. — Т.7(№2). — Ч. 3. — Львів, 2005. — с. 240–245.
70. Родионов Г.В., Животноводство / Родионов Г.В., Арилов А.Н., Арылов Ю.Н., Юлдашбаев Ю.А., Табакова Л.П. [и др.]. — СПб.: Лань, 2014. — 640 с.
71. Ротэрмель З.А., Сенкевич И.В. Использование гетерозиса при межпородном скрещивании свиней // Метод. развед. свиней. М.: Колос, 1965. — с. 25–29.
72. Рудоман Г.С. Аналіз поліморфізму гена MUC4, асоційованого зі стійкістю свиней вітчизняної та зарубіжної селекції до колібактеріозу / Г. С. Рудоман, В. М. Балацький, В. Ю. Нор // Розведення і генетика тварин. - 2016. — Вип. 51. — с. 200–205.
73. Рудоман Г.С. Генетична структура свиней великої білої породи української та англійської селекції за генами FUT1 і MUC4 асоційованими з резистентністю тварин до колібактеріозу/Г. С. Рудоман, В. М. Балацький//Свинарство. – 2014. – Вип. 65. – с. 154-160.

74. Селионова М.И. Применение молекулярно-генетических тестов в свиноводстве / М.И. Селионова, Л.Н. Чиждова, А.В. Скокова // В сборнике: I Евразийская научно-практическая конференция «Инновационные агробιοтехнологии в животноводстве и ветеринарной медицине» ответственный редактор И.Я. Нам. — Санкт-Петербург. — 2015. — с. 127-131.
75. Селех М.А. Разведение продуктивных животных в центральной степи УССР. — Дн-вск.: изд-во «Промінь», 1976. — 135 с.
76. Селех М.А. Исследования по использованию беркширов для племенных целей. — К.: изд-во «Урожай», 1964. — 88с.
77. Северин В.И., Сметанин В.Т., Сокрут В.И., Безенко С.П. О повышении иммуногенетических оценок свиней племенных стад в Днепропетровской области // Генетические аспекты селекции. — К., 1992. — с. 77-81.
78. Сметанин В.Т. Использование генетических маркеров в сохранении внутривидовой изменчивости сельскохозяйственных животных // Проблеми природокористування, сталого розвитку та техногенної безпеки регіонів: Мат. II науч.-практ. конференції. — Дніпропетровськ, 2003. — с. 151-152.
79. Сметанин В.Т., Кузьменко А.И. Генотип инбридных свиней селекции ДСГІ за микросателлитными генами ДНК, выявленными за допомогою ІССР-ПЛР // Вісник Дніпропетровського університету. — № 3/1. — 2005. — с. 255-258.
80. Сметанин В.Т., Хмелева Е.В. Современный этап селекционной работы со свиньями селекции ДСХІ // Вісник Дніпропетровського ДАУ. — 2002. — №2. — с. 116-118.
81. Сметанин В.Т., Кузьменко А.И. Генотип многоплодных маток свиней селекции ДСХІ по микросателлитным генам ДНК, выявленным при помощи ІССР-PCR // Вісник Полтавської державної аграрної академії. — 2004. — № 4. — с. 69-71.
82. Сметанин В.Т. Локальная популяция свиней селекции Днепропетровского СХІ, ее продуктивность, структура и генетические особенности // Науково-технічний бюлетень інституту тваринництва УААН. — Вип. № 91. — Харків. — 2005. — с. 86-91.
83. Сидорчук А. А., Масимов Н. А., Крупальник В. Л., Грищенко Л. И. и др. Инфекционные болезни животных: Учебник. — М.: ИНФА, 2016. — 954 с.
84. Сокрут В.И., Сметанин В.Т., Безенко С.П. Генетические особенности свиней селекции Днепропетровского СХІ по группам крови // Свиноводство. — К.: Урожай, 1986. — № 42. — с. 30-34.

85. Сокрут В.И., Лоза А.Р. Откормочные и убойные качества чистопородных свиней крупной белой породы и их помесей с беркширами и ландрасами // Тр. Днепропетровского СХИ. — Т. 14. — Днепропетровск, 1970. — с. 81–89.
86. Суллер И.Л. Селекционно-генетические методы в животноводстве: Учебное пособие. — СПб.: Проспект Науки, 2018. — 160 с.
87. Супрун І. О. Генезис стресу сільськогосподарських тварин // Біологія тварин. — 2012. — № 14, № 1–2. — с. 55–63.
88. Халафян А.А. Контроль качества, анализ процессов, планирование экспериментов в пакете Statistica. — М.: Либроком, 2013 — 384 с.
89. Харзинова В.Р. Локальные породы свиней: сравнительная характеристика аллелофонда на основе анализа микросателлитов / В. Р. Харзинова, О. В. Костюнина, Н. А. Зиновьева // Свиноводство. — 2017 — № 1. — с. 5–7.
90. Шейко И. П. и др. Оптимальные параметры продуктивности свиней материнских пород, рассчитанные с применением комплекса селекционно-генетических методов // Свиноводство. — 2019. — № 73. — с. 205–211.
91. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия: Учеб.-справ. пособие. — 4-е изд., испр. и доп. — Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2010. — 514 с.
92. Щербатов В.И. Методы комплексной оценки и ранней диагностики продуктивности сельскохозяйственных животных: учеб. пособие/ В.И. Щербатов, И.Н. Тузов, А.Г. Дикарев. — Краснодар: КубГАУ, 2016. — 215 с.
93. Эйсер Ф.Ф. Об эффективности межпородных скрещиваний в скотоводстве и свиноводстве. // Гетерозис в животноводстве. — Л.: Колос, 1968. — С. 119–127.
94. Эрнст, Л.К., Зиновьева, Н.А. Биологические проблемы животноводства в XXI веке / Л.К. Эрнст, Н.А. Зиновьева. — М.: РАСХН. — 2008. — 508 с.
95. AFLP protocol comparison for microbial diversity fingerprinting. / Bertani G., Savo Sardaro M.L., Neviani E., Lazzi C. — J. Appl. Genet. — 2019. — V60(2): p. 217-223. doi: 10.1007/s13353-019-00492-0.
96. Albert, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D. Molecular biology of the cell, 6th edition. — Garland Science, 2015. — 1465 p.
97. Alexa P. Faecal shedding of verotoxigenic Escherichia coli in cattle in the Czech Republic / P. Alexa, L. Konstantinova, Z. Sramkova-Zajacova // Veter. Med. — 2011. — Vol. 56. — № 4. — p. 149-155

98. Alexander L.J., Juneja B., Shiroma D., Nonneman D., Snelling W., Fahrenkrug S. C. Comparative and physical mapping of 111 previously reported and 105 new porcine microsatellites. — *Animal Genetics*. — 2007. — V. 38 Issue 6. — p. 584-594.
99. Andersson L. Molecular consequences of animal breeding. *Curr. Opin. Genet. Dev.* — 2013. — V.23. — p. 295–301.
100. Askari N., Mohammad Abadi M., Baghizadeh A. ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic characterization of cattle, goat and sheep populations // *Iranian Journal of Biotechnology*. — 2011. — V. 9, Is.3. — p. 222–229.
101. Ashwell C.M., Angel R. Nutritional genomics: a practical approach by early life conditioning with dietary phosphorus // *Revista Brasileira de Zootecnia*. — 2010. — V. 39. — p. 268-278.
102. Asroush F. et al. Genetic characterization of Markhoz goat breed using microsatellite markers // *Archives Animal Breeding*. — 2018. — V.61, №4. — p. 469-473.
103. Bakoev S., Getmantseva L., Bakoev F., Kolosova M., Gabova, V.; Kolosov A., Kostyunina O. Survey of SNPs Associated with Total Number Born and Total Number Born Alive in Pig. // *Genes*. — 2020. — V. 11. 491. doi:10.3390/genes11050491.
104. Bao W.B. Beneficial genotype of swine FUT1 gene governing resistance to E. coli F18 is associated with important economic traits / W.B. Bao, L. Ye, Z.Y. Pan, J. Zhu, G.Q. Zhu, X.G. Huang and S.L. Wu // *J. Genet.* — 2011. — V. 90. — p. 315–318
105. Bao W.B., Ye L., Zhu J., Pan Z.Y., Zhu G.Q., Huang X.G., Wu S.L. Polymorphism of M307 of the FUT1 gene and its relationship with some immune indexes in Sutan pigs (duroc x meishan). // *Biochem Genet.* — 2011. — V. 49, №(9–10). — p. 665–673.
106. Barroso L.M.A., Nascimento M., Nascimento A.C.C., Silva F.F., Seroo N.V.L., Cruz C.D., Resende M.D.V., Silva F.L., Azevedo C.F., Lopes P.S., Guimarães S.E.F. Regularized quantile regression for SNP marker estimation of pig growth curves. // *Journal of animal science and biotechnology*. — 2017. — v.8. — p.1-9, Doi: 10.1186/s40104-017-0187-z.
107. Beckman J.S., Soller M. Restriction fragment length polymorphism in genetic improvement: Methodologies mapping and costs // *Theory and Apply Genet.* — 1983. — V. 67. — p. 35–43.
108. Becker D., Wimmers K., Luther H., Hofer A., Leeb, T. A genome-wide association study to detect QTL for commercially important traits in Swiss Large White boars // *PLoS ONE*. — 2013. — V.8, №2. — art. e55951, DOI: 10.1371/journal.pone.0055951.

109. Becker A., Chao D.Y., Zhang X., Salt D.E., Baxter I. Bulk segregant analysis using single nucleotide polymorphism microarrays // *PloS one*. — 2011. — V.6, Is.1. — art. e15993, doi.org/10.1371/journal.pone.0015993.
110. Bertolini F. Study of Candidate Genes for production and carcass traits in Italian Heavy Pigs: identification of a new DNA Markers, Expression Studies and Association Analysis using Different Experimental Design: Dissertation thesis: PhD in zootechnical sciences / University of Bologna, 2012. — 117 p.
111. Bidanel J.P. Biology and Genetics of Reproduction / J.-P. Bidanel // *The genetics of the pig*. Edited by M.F. Rothschild and A. Ruvinsky. — CAB International. — 2011. — p.218-241.
112. Bidanel J. P. et al. Fifty years of pig breeding in France: outcomes and perspectives // *Journées de la Recherche Porcine en France*. — 2018. — V.50. — p. 61-74.
113. Bishop S.C., Woolliams J.A. Genomics and disease resistance studies in livestock. / *Livest Sci*. — 2014. — V.166. — p. 190–198.
114. Blazquez E., Rodriguez C., Rodenas J., Perez de Rozas A., Campbell J.M., Segales J., Pujols J., Polo J. Evaluation of ultraviolet-C and spray-drying processes as two independent inactivation steps on enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 and K99 strains inoculated in fresh unconcentrated porcine plasma. *Lett Appl Microbiol*. — 2018. — V. 67, N 5. — p. 442-448.
115. Blaj I., Tetens J., Preub S., Bennewitz J., Thaller G. Genome-wide association studies and meta-analysis uncovers new candidate genes for growth and carcass traits in pigs. *PLoS One*. — 2018. — V.11;13 (10):e0205576. doi: 10.1371/journal.pone.0205576.
116. Bosworth B.T. et al. Methods to identify swine genetically resistant to F18 *E. coli* associated diseases: US Patent Number: US006965022B2; 2005; United States Patent and Trademark Office.
117. Brar M.S. Shi M., Ge L., Carman S., Murtaugh M.P., Leung F.C.C. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Ontario, Canada 1999 to 2010: genetic diversity and restriction fragment length polymorphisms // *Journal of general virology*. — 2011. — V.92, №6. — p. 1391–1397.
118. Buard J., Rivals E., Dunoyer de Segonzac D., Garres C., Caminade P., de Massy B., Boursot P. Diversity of Prdm9 zinc finger array in wild mice unravels new facets of the evolutionary turnover of this coding minisatellite. *PLoS One*. — 2014. — V. 13, Is.9(1): e85021. doi: 10.1371/journal.pone.0085021.

119. Caetano-Anollés G., Nasir A. Benefits of using molecular structure and abundance in phylogenomic analysis. *Front Genet.* — 2012. — V. 6, Is.3, Art:172. doi: 10.3389/fgene.2012.00172.
120. Crow J.F. Reprint - Haldane, Fisher and Wright. *J. Genet.* — 2017. — V. 96. — p. 741–742.
121. Coddens A., Loos M., Vanrompay D., Remon J.P., Cox, E. Cranberry extract inhibits in vitro adhesion of F4 and F18+ *Escherichia coli* to pig intestinal epithelium and reduces in vivo excretion of pigs orally challenged with F18+ verotoxigenic *E. coli* // *Veterinary microbiology.* — 2017. — V. 202. — p. 64-71.
122. Coddens A., Teneberg S., Cox E. Identification of the receptor for F18+ *E. coli*: new perspectives towards development of a prophylactic treatment against F18+ *E. coli* infections in pigs // 21st International Pig Veterinary Society Congress (IPVS 2010). — International Pig Veterinary Society (IPVS), 2010. — p. 287.
123. Cortes O. et al. Conservation priorities of Iberoamerican pig breeds and their ancestors based on microsatellite information // *Heredity.* — 2016. — V.117, Is.1. — p. 14-24.
124. Costa V. et al. Microsatellite markers for identification and parentage analysis in the European wild boar (*Sus scrofa*) // *BMC Research Notes.* — 2012. — V.5., Is.1. — p. 1-6.
125. Cox E. Colibacillosis in Swine // Reviewed at Lesaffre Symposium, Lille, France, November. — 2011. — p. 8-9.
126. Cox E. Post-Weaning *E. coli* Infections in Pigs and Importance of the Immune System // E. Cox, M. Loos, A. Coddens, B. Devriendt, V. Melkebeek, D. Vanrompay, B.M. Goddeeris // *Actes des Journées AFMVP: Maisons-Alfort, France, 2012.* — 13 p.
127. Davoli R. et al. Genome- wide study on intramuscular fat in Italian Large White pig breed using the Porcine SNP 60 BeadChip // *Journal of Animal Breeding and Genetics.* — 2016. — V.133, Is.4. — p. 277-282
128. Dekkers J.C.M. Application of genomics tools to animal breeding // *Current genomics.* — 2012. — V.13, № 3. — p. 207-212.
129. Dekkers J.C.M. et al. The use of molecular genetic information in genetic improvement programmes for pigs // *Achieving sustainable production of pig meat Volume 2.* – Burleigh Dodds Science Publishing, 2018. — p. 37-60.
130. Detection of genomic variations and DNA polymorphisms and impact on analysis of meiotic recombination and genetic mapping / J. Qi, Y. Chen, G.P. Copenhaver, H. Ma // *PNAS.* — 2014. — Vol. 111, № 27. — p. 10007–10012.

131. Discrimination between selected lines of pigs using AFLP markers / N. D. Cameron, M. J. van Eijk, B. Brugmans [et al.] // *Heredity*. — 2003. — Vol. 91, № 5. — p. 494–501.
132. Dubreuil J. D. Animal enterotoxigenic *Escherichia coli*, Eco Sal Plus / J. D. Dubreuil, R. E. Isaacson, D. M. Schifferli. — 2016 / doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0006-2016.
133. Edfors I., Gahne B., Petersson H. Genetic influence on antibody response to two *Escherichia coli* antigens in pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* — 2011. — V. 102. — p. 308–317.
134. Edfors I., Torremorell M. *Escherichia coli* and salmonella in pigs // *Breeding for disease resistance in farm animals* — 2010. — p. 232-250.
135. Ens S. Inexpensive and safe DNA gel electrophoresis using household materials / Ens S., Olson A. B., Dudley C., Ross N. D., Siddiqi A.A., Umoh K.M., Schneegurt M.A. // *Biochemistry and Molecular Biology Education*. — 2012. — V.40, N3. — p. 198–203
136. Ernst C.W., Steibel J.P. Molecular advances in QTL discovery and application in pig breeding / *Trends Genet.* — 2013. — V.29, N.4. — p. 215-224.
137. Fontanesi L. The insulin-like growth factor 2 (IGF2) gene intron3-g.3072G>A polymorphism is not the only *Sus scrofa* chromosome 2p mutation affecting meat production and carcass traits in pigs. / L. Fontanesi, C. Speroni, L. Buttazzoni, E. Scotti, S. Dall'Olio, L. Nanni Costa, R. Davoli, V. Russo // *J. Anim. Sci.* — 2010. — №88. — p. 2235-2245.
138. Georges M., Charlier C., Hayes B. Harnessing genomic information for livestock improvement // *Nature Reviews Genetics*. — 2019. — V.20, №3. — p. 135-156.
139. Georges M. When less means more: impact of myostatin in animal breeding // *Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine and Metabolic Agents)*. — 2010. — V.10, №4. — p. 240-248.
140. Gerlando R., Tortorici L., Sardina M.T., Monteleone G., Salvatore Mastrangelo S., Portolano B. Molecular Characterisation of κ -Casein Gene in Girgentana Dairy Goat Breed and Identification of Two New Alleles. *Italian Journal of Animal Science*, 2016. — Vol. 14. — p. 90–93.
141. González-Ruiz S., Strillacci M.G., Durán-Aguilar M., Cantó-Alarcón G.J., Herrera-Rodríguez S.E., Bagnato A., et al. Genome-wide association study in mexican holstein cattle reveals novel quantitative trait loci regions and confirms mapped loci for resistance to bovine tuberculosis. / *Animals (Basel)*. — 2019. — V.9(9): 636. doi:10.3390/ani9090636.

142. González-Ortiz G. et al. Screening the ability of natural feed ingredients to interfere with the adherence of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) K88 to the porcine intestinal mucus // British journal of nutrition. — 2014. — T.111, №4. — p. 633–642.
143. Gresham D. DNA microarray-based mutation discovery and genotyping // Molecular Methods for Evolutionary Genetics. — 2012. — p. 179-191.
144. Gresse R., Chaucheyras-Durand F., Fleury M.A., Van de Wiele T., Forano E., Blanquet-Diot S. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. Trends Microbiol. — 2017. — V. 25 N10.— p. 851–873
145. Griffiths A.J.F., Miller J.H., Suzuki D.T. et al. An Introduction to Genetic Analysis. 11th edition. — New York: W. H. Freeman, 2015. — 456 p.
146. Haley C.S. QTL (Quantitative Trait Locus) // Brenner's Encyclopedia of Genetics: Reference Work, 2nd ed. / Editors-in-Chief: Maloy S. and Hughes K. Edinburgh, UK: University of Edinburgh–Easter Bush, Midlothian, UK Western General Hospital, 2013. p. 3–7.
147. Han C.Y., Zhang, Q.M., Li, Q.C., Liu, Q.W., Hong, J.H. Detection on the Halothane gene in Meizhou pigs by PCR-RFLP // Guangdong Agricultural Sciences. — 2012. — V. 2012, № 18. — p. 56.
148. Hannan T.J., Totsika M., Mansfield K.J., Moore K.H., Schembri M.A., Hultgren S.J. Host-pathogen checkpoints and population bottlenecks in persistent and intracellular uropathogenic *Escherichia coli* bladder infection. / FEMS Microbiol. Rev. — 2012. — V.36 — p. 616–648.
149. Hedegaard C.J., Heegaard P.M.H. Passive immunisation, an old idea revisited: basic principles and application to modern animal production systems. / Vet Immunol Immunopathol. — 2016. — V.174 — p. 50–63.
150. Hesselager M.O., Everest-Dass A.V., Thaysen-Andersen M., Bendixen E., Packer N.H. FUT1 genetic variants impact protein glycosylation of porcine intestinal mucosa. / Glycobiology. — 2016. — V.26. — p. 607-22.
151. Hidalgo A.M., Bastiaansen J.W., Lopes M.S., Veroneze R., Groenen M.A., de Koning D.J. Accuracy of genomic prediction using deregressed breeding values estimated from purebred and crossbred offspring phenotypes in pigs / J. Anim. Sci. — 2015. — V.93, N.7. — p.3313-21. doi: 10.2527/jas.2015-8899

152. High throughput SNP detection system based on magnetic nanoparticles separation / B. Liu, Y. Jia, M. Ma, Zh. Li, H. Liu, S. Li, Y. Deng, L. Zhang, Z. Lu, W. Wang, N. He. //Journal of biomedical nanotechnology. — 2013. — V.9, № 2.— C. 247-256.
153. Horák P., Urban T., Dvorák J. The FUT1 and ESR genes — their variability and associations with reproduction in Prestice Black–Pied sows. — Animal Breeding and Genetic. — 2005. — Vol. 122, №3. — p. 210–213.
154. Hou G., Wang D., Guan S., Zeng H., Huang X., Ma, Y. Associated analysis of single nucleotide polymorphisms of IGF2 gene's exon 8 with growth traits in Wuzhishan pig //Molecular Biology Reports. — 2010. — V.37, №1. — p. 497-500.
155. Hu F. et al. QTL identification using combined linkage and linkage disequilibrium mapping for milk production traits on BTA6 in Chinese Holstein population / F. Hu, J.F. Liu, Z.B. Zeng, X.D. Ding, C.C. Yin, Y.Z. Gong, Q. Zhang //Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. — 2010. — V.23, № 10. — p. 1261-1267.
156. Huang H., Scheffler T.L., Gerrard D.E. Larsen M.R., Lametsch R. Quantitative proteomics and phosphoproteomics analysis revealed different regulatory mechanisms of halothane and Rendement Napole genes in porcine muscle metabolism // Journal of proteome research. — 2018. — V. 17, №8. — p. 2834-2849.
157. Innis M. A. et al. (ed.). PCR protocols: a guide to methods and applications. — Academic press, 2012. — 482 p.
158. Jacobsen M., Kracht S. S., Estes G., Cirera S. Edfors I., Archibald A.L., Bendixen C., Andersson L., Fredholm M., Jørgensen C. B. Refined candidate region specified by haplotype sharing for *Escherichia coli* F4ab/F4ac susceptibility alleles in pigs. — Animal Genetic. — 2010. — Vol. 41(1). — p. 21–25.
159. Jacobsen M. et al. Characterisation of five candidate genes within the ETEC F4ab/ac candidate region in pigs //BMC Research Notes. — 2011. — V. 4., №1. — p. 1-8.
160. Jayaraman B., Regassa A., Htoo J. K., Nyachoti C.M. Effects of dietary standardized ileal digestible tryptophan: lysine ratio on performance, plasma urea nitrogen, ileal histomorphology and immune responses in weaned pigs challenged with *Escherichia coli* K88 //Livestock Science. — 2017. — V. 203. — p. 114-119.
161. Jensen M. L. Cilieborg M.S., Ostergaard M.V., Bering S.B., Jørgensen C.B., Sangild P.T. *Escherichia coli* challenge in newborn pigs //Journal of animal science. — 2012. — V. 90, №. 4. — p. 43-45.

162. Jiang Y. et al. Tissue expression pattern and polymorphism of GOS2 gene in porcine //Gene. —2014. — V. 539, №1. — p. 173-179.
163. Jin L. et al. Genome-wide DNA methylation changes in skeletal muscle between young and middle-aged pigs // BMC genomics. — 2014. — V. 15, №1. — p. 1-12.
164. Johansson M.M. Coddens A., Benktander J., Cox E., Teneberg S. Porcine intestinal glycosphingolipids recognized by F6-fimbriated enterotoxigenic *Escherichia coli* //Microbial pathogenesis. — 2014. — V. 76. — p. 51-60.
165. Johnson T.J., Shepard S.M., Rivet B., Danzeisen J.L., Carattoli A. Comparative genomics and phylogeny of the IncI1 plasmids: a common plasmid type among porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* //Plasmid. — 2011. — V. 66, № 3. — p. 144-151.
166. Joller D., Bertschinger H. U., Bürgi E., Jorgensen C. B., Malek M., Jörg H., Genini S. and Vögeli P.. Linkage mapping of the porcine Mucin 4 gene on SSC13 and association with the *Escherichia coli* F4ac receptor gene. Pig Genome I. An Overview of Cutting-edge Genomics with Emphasis on the Pig//Parco Tecnologico Padano. — 2006. — p. 52.
167. Joller D., Jorgensen C.B., Bertschinger H.U., Python P., Edfors I., Cirera S., Archibald A.L., Bürgi E., Karlskov-Mortensen P., Andersson L., Fredholm M., Vögeli P. Refined localization of the *Escherichia coli* F4ab/F4ac receptor locus on pig chromosome 13. — Animal Genetetic. — 2009. — Vol. 40 №5. — p. 749–52.
168. Jones C. K. Characterizing the fallback pig: Dissertation thesis: PhD in Animal Science / Iowa State University, Ames, Iowa, 2012 — 227 p.
169. Jorgensen C.B. et al. Porcine polymorphisms and methods for detecting them: US Patent Number: US007785778B2; 2010; United States Patent and Trademark Office.
170. Jorgensen C.B., Anderson S.I., Cirera S., Archibald A., Raudsepp T., Chowdhary B., Edfors-Lilja I., Andersson L. and Fredholm M.. Mucin 4: A Candidate Gene for Susceptibility Towards *E. Coli* F4ab/ac Diarrhea in the Pig. Swine in Biomedical Research Conference 2005. — 2005. — p. 31.
171. Kim C.H., Oh Y., Ha Y., Ahn Q., Kim S.H., Cho K.D., Lee B.H., Chae C. Expression of mucins in the mucosal surface of small intestines in 1 week-old pigs. — Journal of Veterinary Medicine Science. — 2010. — Vol. 72 №2. — p. 245–247.
172. Kim J.J., Dekkers J. C. M. A Least Squares Regression Model to Detect Quantitative Trait Loci with Polar Overdominance in a Cross of Outbred Breeds: Simulation //Asian-Australasian journal of animal sciences. — 2013. — V.26, №. 11. — p. 1536-1544.

173. Kircher M., Kelso J. High- throughput DNA sequencing—concepts and limitations //Bioessays. — 2010. — V. 32, № 6. — p. 524-536.
174. Klukowska J., Urbaniak B., Switonski M. High frequency of M307^a mutation at *FUT1* locus, causing resistance to oedema disease, in an autochthonous polish pig breed, the zlotnicka spotted. — 1999. — V. 116 (6). — p. 519–524.
175. Knap P.W., Doeschl-Wilson A. Why breed disease-resilient livestock, and how?. Genetics Selection Evolution, BioMed Central. — 2020, — V. 52 (1). — p.60. (doi.org/10.1186/s12711-020-00580-4).
176. Koacz R., Cwynar P., Filistowicz M. Genetic progress and health implications in swine breeding. Medycyna Wet. — 2009, — V. 65 (7). — p. 435–438.
177. Lai K., Lorenc M. T., Edwards D. Molecular marker databases //Plant Genotyping. — Humana Press, New York, NY, 2015. — p. 49-62.
178. Lei H. G. et al. Comparison of the meat quality, post-mortem muscle energy metabolism, and the expression of glycogen synthesis-related genes in three pig crossbreeds //Animal Production Science. — 2015. — T. 55. — №. 4. — C. 501-507.
179. Lewin B. et al. Genes X. Sudbury, Mass.: Jones and Bartlett. 2011. — p. 930.
180. Lu T. et al. Mapping the neutralizing epitopes of F18 fimbrial adhesin subunit FedF of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) //Veterinary microbiology. — 2019. — V. 230. — p. 171-177.
181. Marcos B., Liu J., Rai D. K., Di Luca A., Mullen A. M. Assessment in the Quality and Safety of Food of Animal Origin // Methods in Animal Proteomics. — 2011. — p. 397-430.
182. Meijerink E., Neuenschwander S., Fries R., Dinter A., Bertschinger H.U., Stranzinger G., Vögeli P. A DNA polymorphism influencing alpha(1,2)fucosyltransferase activity of the pig *FUT1* enzyme determines susceptibility of small intestinal epithelium to *Escherichia coli* F18 adhesion.//Immunogenetics. — 2000. — V. 52. — p. 129–136.
183. Moniruzzaman M., Khatun R., Mintoo A. A. Application of marker assisted selection for livestock improvement in Bangladesh // Bangladesh Veterinarian. — 2014. — V. 31, №1. — p. 1-11.
184. Mooi F. R. and F. K. de Graaf. Isolation and characterization of K88 antigen. Fems Microbiol. — 1978. — Lett. 5, №1. — p. 17–20.

185. Moriel D. G. et al. Identification of protective and broadly conserved vaccine antigens from the genome of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* //Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2010. — V. 107, №20. — p. 9072-9077.
186. Mottram L. et al. How genomics can be used to understand host susceptibility to enteric infection, aiding in the development of vaccines and immunotherapeutic interventions //Vaccine. — 2019. — V.37, №34. — p. 4805-4810.
187. Mulder H.A., Meuwissen T.H.E., Calus M.P.L., Veerkamp R.F. The effect of missing marker genotypes on the accuracy of gene-assisted breeding value estimation: a comparison of methods //Animal. — 2010. — V. 4, №. 1. — p. 9–19.
188. Mullis K. et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. 1986 [classical article] //Biotechnology. — 1992. — V. 24. — p. 17-27.
189. Nada R.A. et al. Discovery and phylogenetic analysis of novel members of class b enterotoxigenic *Escherichia coli* adhesive fimbriae //Journal of clinical microbiology. — 2011. — V. 49, № 4. — p. 1403–1410.
190. Nguyen U. V. et al. High susceptibility prevalence for F4+ and F18+ *Escherichia coli* in Flemish pigs // Veterinary microbiology. — 2017. — V. 202. — p. 52–57.
191. Ondrackova P., Alexa P., Matiasovic J., Volf J., Faldyna M. Interaction of porcine neutrophils with different strains of enterotoxigenic *Escherichia coli* // Veterinary microbiology. — 2012. — V. 160, № 1-2. — p. 108-116.
192. Ouedraogo J. T. et al. Development of sequence characterized amplified region (SCAR) markers linked to race-specific resistance to *Striga gesnerioides* in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) //African Journal of Biotechnology. — 2012. — V.11, №62. — p. 12555–12562.
193. Ouwehand A. C. Recent advances in probiotic research: a conference update //Future microbiology. — 2011. — V.6, №9. — p. 981–984.
194. Pareek C.S. et al. Gene expression profiling by cDNA-AFLP and identification of differentially expressed transcripts of bovine pituitary gland in growing bulls of dairy breeds //Animal Science Papers and Reports. — 2012. — V.30, № 2. — p. 103–119.
195. Pastoret S. et al. Detection of disease resistance and susceptibility alleles in pigs using oligonucleotide microarray hybridization // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. — 2012. — V. 24, Is. 3. — p. 479–488.
196. Preisinger R. Genome-wide selection in poultry //Animal production science. — 2012. — V. 52, Is. 3. — p. 121–125.

197. Priori D., Colombo M., Koopmans S. J., Jansman A. J. M., van der Meulen J., Trevisi P., Bosi P. The A0 blood group genotype modifies the jejunal glycomic binding pattern profile of piglets early associated with a simple or complex microbiota. *Journal of Animal Science*. — 2016. — V.94, Is. 2. — p. 592–601.
198. Ram S., Sharma S., Verma A., Tyagi B.S., Pena R.J. Comparative analyses of LMW glutenin alleles in bread wheat using allele-specific PCR and SDS-PAGE. *Journal of cereal science*. — 2011. — V. 54, Is.3. — p. 488–493.
199. Rampoldi A., Jacobsen M.J., Bertschinger H.U., Joller D., Bürgi E., Vögeli P., Andersson L., Archibald A.L., Fredholm M., Jørgensen C.B., Neuenschwander S. The receptor locus for *Escherichia coli* F4ab/F4ac in the pig maps distal to the MUC4–LMLN region. *Mamm Genome*. — 2011. — V. 22, № 1–2. — p. 122–129.
200. Rempel, L.A. Association analyses of candidate SNP on reproductive traits in swine / L.A. Rempel, D.J. Nonneman, T.H. Wise, T. Erkens, L.J. Peelman, G.A. Rohrer // *J. Anim. Sci.* – 2010. – V. 88 (1). — p. 1–15.
201. Ren J., Yan X., Ai H., Zhang Z., Huang X., et al. Susceptibility towards Enterotoxigenic *Escherichia coli* F4ac Diarrhea Is Governed by the MUC13 Gene in Pigs. // *PLoS ONE*. — 2012. — V.7, Is.9. — art. e44573. doi:10.1371/journal.pone.0044573
202. Ren F. et al. Relationship between the insertion/deletion variants of POU1F1, FSH β , and MUC13 and testis measurement traits in male piglets // *Journal of Animal and Plant Sciences*. — 2017. — V.27, №3. — p. 790–796.
203. Rodriguez-Martinez H. Control of Pig Reproduction IX // Rodriguez-Martinez H., Soede N.M., Flowers W.L. / Context Products Ltd, Leicestershire, 2013. — 345 p.
204. Roth E. et al. Population dynamics of two antilisterial cheese surface consortia revealed by temporal temperature gradient gel electrophoresis // *BMC microbiology*. — 2010. — V. 10, №1. doi.org/10.1186/1471-2180-10-74.
205. Rothschild M.F., Jacobson C., Vaske D., Tuggle C., Wang L., Short T., et al. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* — 1996.— V. 93. — p. 201–205.
206. Rothschild M.F., Plastow G.S. Applications of genomics to improve livestock in the developing world // *Livestock Science*. — 2014. — V.166. — p. 76–83.
207. Rothschild M. F. Genetic and genomic technologies from AZ // *Pig Genetics Workshop*. – 2010. – p. 25-35.

208. Rothschild M. Pork production: what does tomorrow's world hold? //Farmer's Weekly. — 2019. — V. 2019, № 19023. — p. 6–7.
209. Rothschild M.F., Hu Z.L., Jiang Z.H. Advances in QTL mapping in pigs. *Int. J. Biol. Sci.* — 2007. — V. 3. — p. 192-197.
210. Ruan, G.R., Genetic variation at RYR1, IGF2, FUT1, MUC13, and KPL2 mutations affecting production traits in Chinese commercial pig breeds / G.R. Ruan, Y.Y. Xing, Y. Fan, R.M. Qiao, X.F. He, B. Yang, N.S. Ding, J. Ren, L.S. Huang, S.J. Xiao // *Czech J. Anim. Sci.* — 2013. — № 58(2). — p. 65–70.
211. Schroyen M. et al. The MC4R c. 893G> A mutation: A marker for growth and leanness associated with boar taint odour in Belgian pig breeds //Meat science. — 2015. — V.101. — p. 1–4.
212. Schroyen M., Stinckens A., Verhelst R., Niewold T., Nadine Buys N. The search for the gene mutations underlying enterotoxigenic Escherichia coli F4ab/ac susceptibility in pigs: a review // *Veterinary research.* — 2012. — V.43, №1. — Art. 70. doi.org/10.1186/1297-9716-43-70.
213. Stupka R. et al. The impact of MYOG, MYF6 and MYOD1 genes on meat quality traits in crossbred pigs. / R. Stupka, J. Citek, M. Sprysl, M. Okrouhla, L. Brzobohaty //African Journal of Biotechnology. — 2012. — V.11, №88. — p. 15405–15409.
214. Tabasum S, Khan FA, Nawaz S, Iqbal MZ, Saeed A. DNA profiling of sugarcane genotypes using randomly amplified polymorphic DNA. *Genet. Mol. Res.* — 2010. — V.16, N9(1). — p. 471-483.
215. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. "MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods". // *Mol Biol Evol* — 2011. — 28 (10). — p. 2731–9.
216. te Pas M.F., Madsen O., Calus M.P., Smits M.A. The Importance of Endophenotypes to Evaluate the Relationship between Genotype and External Phenotype. *J. Mol. Sci.* — 2017. — V.18(2):472. doi: 10.3390/ijms18020472.
217. Thuy H. T. et al. Associations of some candidate gene polymorphisms with growth traits in Duroc pigs // *Livestock Research for Rural Development.* — 2019. — V.1, №10. — art. 158. lrrd.org/lrrd31/10/pdlan31158.html

218. Trakovicka A., Moravcikova N., Navratilova A., Kasarda R. Carcass and meat quality in relation to the polymorphism in porcine MYF4 gene // J. Appl. Genet. Agriculture & Forestry. — 2016 — Vol. 62, Is.4. — p. 95–100.
219. Tsereniuk O.M., Bobrytska O.M., Miroshnikov, O.S., Danchuk, O.V. DNA-type results of Landrace sows for RYR1-gene and its association with productivity // Regulatory Mechanisms in Biosystems. — 2020. — V. 11, №. 3. — p. 431–437.
220. Vashchenko P.A., Balatsky V.M., Pocherniaev K.F., Voloshchuk V.M., Tsybenko V.H., Saenko A.M., Oliynychenko Ye.K., Buslyk T.V., Rudoman H. S. Genetic characterization of the mirgorod pig breed, obtained by analysis of single nucleotide polymorphisms of genes. Agricultural Science and Practice. — 2019. — V. 6, N.2. — p. 47–57.
221. Vidal, A., Martín- Valls, G. E., Tello, M., Mateu, E., Martín, M., & Darwich, L. Prevalence of enteric pathogens in diarrheic and non- diarrheic samples from pig farms with neonatal diarrhea in the North East of Spain. // Veterinary Microbiology. — 2019. — V.237, Art.108419 — p. 1–8.
222. Vidotto M. C., Florian E. C. T., Ono M. A. Prevalence of the paa gene (porcine attaching and effacing associated) in porcine enteropathogenic *Escherichia coli* (PEPEC) associated with postweaning diarrhea in south Brazil // Brazilian Journal of Microbiology. — 2013. — V. 44, №. 2. — p. 515–517.
223. Vögeli P. Genetics of the enterotoxigenic *E. coli* F4 receptors in swine // Beratende Kommission des Instituts für Pflanzen-, Tier-und Agrarökosystem-Wissenschaften (IPAS). — 2010.
224. Vogeli P. Search for marker genes linked to the genes specifying receptors of F18 fimbriated *Escherichia coli* strains causing oedema disease and postweaning diarrhoea in the pig. Vet. Med. Faculty, University Zurich. — 2002.
225. Vögeli P., Bertschinger H. U., Stamm M., Stricker C., Hagger C., Fries R., Rapacz J., Stranzinger G.: Genes specifying receptors for F18 fimbriated *Escherichia coli*, causing oedema disease and postweaning diarrhoea in pigs, map to chromosome 6. Anim. Genet. 1996. — V. 27. — p. 321–328.
226. Vrtkova I., Matousek V., Stehlík L., Srubarova P., Offenbartel F., Kernelova N. Genomic markers important for health and reproductive traits in pigs. J. Res. in Pig Breed. — 2007. — V.1(2). — p. 4–6.

227. Vrtková I., Dvůrák J.: Allele frequency of markers of tolerance to diarrhea (FUT1, MUC4) and virus disease (Mx1) in pigs in the Czech Republic. Proc. 30th Internat. Conf. Animal Genetics, Porto Seguro, Brazil. — 2006. — p. 93.
228. Wang D. et al. Genomic imprinting analysis of Igf2/H19 in porcine cloned fetuses using parthenogenetic somatic cells as nuclear donors //Biotechnology letters. — 2014. — V.36, №10. — C. 1945–1952.
229. Wang J., Santiago E., Caballero A. Prediction and estimation of effective population size. / Heredity, Edinburge. — 2016. — V. 117. — p. 193–206.
230. Watson J.D. Molecular Biology Of The Gene, 7Th Ed. // J.D. Watson, T.A. Baker, S.P. Bell, A. Gann, M. Levine, R. Losick / Pearson, New York. 2013. — 912 p.
231. Weller J. I., Ron M. Invited review: quantitative trait nucleotide determination in the era of genomic selection // Journal of dairy science. — 2011. — V.94, №3. — p. 1082–1090.
232. Weller J. I., Van Raden P. M., Wiggans G. R. Application of a posteriori granddaughter and modified granddaughter designs to determine Holstein haplotype effects //Journal of Dairy Science. — 2013. — V.96, N8. — p. 5376–5387.
233. Weller J.I., Ezra E., Ron M. Invited review: A perspective on the future of genomic selection in dairy cattle / J. Dairy Sci. — 2017. — V. 100, N. 11. — p. 8633-8644.
234. Weller J. I. Mapping Quantitative Trait Loci // Bovine Genomics. — 2012. — p. 169–191.
235. Welsh A. et al. Refined NrfA phylogeny improves PCR-based nrfA gene detection //Applied and environmental microbiology. — 2014. — V.80, Is.7. — p. 2110-2119.
236. Whelan S. et al. ModelOMatic: fast and automated model selection between RY, nucleotide, amino acid, and codon substitution models //Systematic biology. — 2015. — V. 64, №. 1. — p. 42–55.
237. Whelan S., Irisari I., Burki F. PREQUAL: detecting non-homologous characters in sets of unaligned homologous sequences //Bioinformatics. — 2018. — V. 34, №. 22. — p. 3929–3930.
238. Wieczorek J., Słomski R., Kowalski W. Smorąg Z. Effect of genetic modification on the health status of transgenic pigs produced with the human α -1,2-fucosyltransferase gene // Medycyna Weterynaryjna. — 2011. — V. 67, № 7. — p. 462–466.
239. Willing B.P., Malik G., Van Kessel A.G. Nutrition and gut health in swine // Sustainable swine nutrition. — 2012. — p. 197–213.

240. Winter S.E., Winter M.G., Xavier M.N., Thiennimitr P., Poon V., Kestra A.M. et al. Host-derived nitrate boosts growth of *E. coli* in the inflamed gut. // *Science*. — 2013. — V.339. — p.708–711.
241. Xia P. et al. Binding determinants in the interplay between porcine aminopeptidase N and enterotoxigenic *Escherichia coli* F4 fimbriae // *Veterinary Research*. — 2018. — V. 49, №1. — . 1–11.
242. Yan X. M. Ren J., Guo Y. M, Dings N. S., Chen K. F. et at. Research on the genetic variations of alfa-1-fucosyltransferase (FUT1) gene in 26 pig breeds // *Yi Chuan Xue Bao*. — 2003. — Vol 30, №9. — p. 830–834.
243. Zhang H., Zhai Z., Li, Q., Liu L., Guo S., Li Q., Yang L. Ye C., Chang W., Zhai J. Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from pigs and farm workers// *J. Food. Prot.* — 2016. V. 79. — p. 1630–1634.
244. Zhang X., Shi K., Wang J., Zhang J., Zhao C., Du C. Polymorphism of Congjiang Pigs FUT1 Gene and Its Association with Carcass and Meat Quality Traits // *Journal of Physics: Conference Series*. – IOP Publishing, 2020. – V.1549, №3. — Art. 032001. doi:10.1088/1742-6596/1549/3/03200.
245. Zhang Y. et al. Genetic variation, population structure and linkage disequilibrium in Switchgrass with ISSR, SCoT and EST-SSR markers // *Hereditas*. — 2016. — V.153, №1. — art.4. doi.org/10.1186/s41065-016-0007-z.
246. Zhao J. et al. Microsatellite markers for animal identification and meat traceability of six beef cattle breeds in the Chinese market // *Food Control*. — 2017. — T. 78. — c. 469–475.

ДОДАТКИ

Додаток А

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

науково-технічної розробки у лабораторну практику

Комітет у складі представників лабораторії генетики Інституту свинарства та АНВ НААНУ Почерняєва К.Ф., Балацького В.М., Сасенко А.М. засвідчуємо, що за ініціативи аспіранта Дніпропетровського державного аграрного університету Сировиса Григорія Ігоровича впроваджено у лабораторну практику оптимізовану методику, яка була викладена у патентах US 6,596,923 B1 та US 7,785,778 B2 ДНК-діагностики чутливості свиней до колибактеріозу за генами *FUT1* (α -фукотидотрансфераза-1) та *MUC4* (муцин-4).

У процесі апробації методики виконані наступні роботи:

- Проведено ампліфікацію поліморфних ділянок генів *FUT1* та *MUC4* із проб ДНК свиней методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) зі специфічними праймерами.
- Оптимізовано режим проведення ПЛР, і запропоновано наступну програму її проведення: 94°C — 5 хв.; 35 циклів: 94 °C — 40 с; 60°C — 40 с; 72 °C — 90 с. и 72 °C — 5 хв. для нуклеотидних послідовностей генів *MUC4* и *FUT1*.
- Виконано аналіз наявності заміни нуклеотидів у продуктах ПЛР за допомогою сайтенеспецифічних ендонуклеаз рестрикції *HinPI* і *HgaI* для ділянки гену *FUT1* та *XbaI* — для ділянки гену *MUC4*.

За допомогою впровадженої тест-системи проведено ДНК-діагностику тварин у рамках науково-дослідних робіт Сировиса Г.І. «Гени ECR F18/FUT1 і ECR F4/MUC4 та їх вплив на господарсько корисні ознаки свиней у закритій популяції».

Завідувач відділу селекції та генетики

Завідувач лабораторії генетики

Молодший науковий співробітник лабораторії генетики

Почерняєв К.Ф.

Балацький В.М.

Сасенко А.М.



СТОВ «Луговське»
52423, Україна, Дніпропетровська обл.,
Солонянський р-н, с. Олександропіль, вул. Тюріна, 4
Тел. 8 (05669) 9-44-69

ДОВІДКА

про впровадження результатів науково-дослідних робіт за темою:
«Гени ECR F18/FUT1 і ECR F4/MUC4 та їх вплив на господарсько
корисні ознаки свиней у закритій популяції»

Цим підтверджується, що методичні і практичні рекомендації та розробки Сировнева Г.І., щодо формування стійкого до колібактеріозу поголів'я свиней у локальній популяції свиней в умовах степової зони України за рахунок поєднання селекційних, популяційно-генетичних та молекулярно-генетичних заходів. Викладені підходи схвалено керівництвом СТОВ «Луговське» Солонянського району Дніпропетровської області та використані у селекційних заходах для підвищення ефективності виробництва продукції свинарства та зростанню прибутку підприємства.

Директор СТОВ «Луговське»

20.08.2018 р.



Л.М. Ковальчук

«Затверджую»
проректор з навчальної роботи
Дніпровського державного
аграрно-економічного університету
Д.М. Онопрієнко
«17» жовтня 2021 р.



ДОВІДКА

про впровадження результатів дисертаційного дослідження

Матеріали дисертаційного дослідження аспіранта кафедри технології годівлі і розведення тварин Сировнєва Григорія Ігоровича «ГЕНИ ECR F18/FUT1 І ECR F4/MUC4 ТА ЇХ ВПЛИВ НА ГОСПОДАРСЬКО КОРИСНІ ОЗНАКИ СВИНЕЙ У ЗАКРИТІЙ ПОПУЛЯЦІЇ» на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук впроваджено у навчальний процес Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Одержані результати наукових досліджень використовуються при вивченні студентами біотехнологічного факультету за освітнім ступенем «Бакалавр» та «Магістр» таких дисциплін: «Генетика з біометрією» і «Селекція тварин».

Пропозиції виробництву, сформульовані на основі проведених досліджень і викладені у дисертаційній роботі Сировнєва Г.І., є матеріалом для підвищення кваліфікації фахівців у галузі тваринництва на базі інституту післядипломної освіти та дорадництва при ДДАЕУ.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації в наукових фахових виданнях України

1. Сасенко А.М., Балацький В.М., **Сировнєв Г.І.**, Сметанін В.Т. Поліморфізм локусів *FUT1* та *MUC4* у популяції свиней української м'ясної породи селекції Дніпропетровського СГІ. *Свинарство*. 2012. Вип. 60. С. 76–79. (Здобувачем проведено відбір зразків біоматеріалу, постановка методики експерименту, проведення лабораторних досліджень).
2. **Сировнєв Г.І.** Генетична мінливість популяції свиней селекції ДСГІ за локусами *FUT1* та *MUC4*. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2012. Вип. 24 (ч. 1). С. 55–59.
3. **Сыровнев Г.И.** Генеалогическая структура популяции свиней селекции Днепропетровского сельскохозяйственного института по полиморфным локусам *FUT1* и *MUC4*. *Научно-технический бюллетень Института животноводства НААН*. 2012. Вып 108. С. 107–111.
4. **Сировнєв Г.І.** Вплив поліморфізму гену альфа-фукозилтрансферази-1 на господарські корисні ознаки свиней у закритій популяції. *Свинарство*. 2013. Вип. 62. С. 194–198.
5. **Сировнєв Г.І.**, Сметанін В.Т. Поліморфізм гена муцин 4 (*MUC4*) у закритій популяції свиней та вплив його алельних форм на господарські корисні ознаки. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2013. Вип. 9. С. 42–45. (Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано їх статистичну обробку та підготовлено матеріали до друку).
6. **Сировнєв Г.І.**, Микитюк В.В., Хмельова О.В. Наявність потенційного збудника колібактеріозу у популяції свиней локальної селекції української м'ясної породи. *Розведення і генетика тварин*. 2020. Вип. 59. С. 115–123. (Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано їх статистичну обробку та підготовлено матеріали до друку).

Наукові праці апробаційного характеру

1. **Syrovnev G.I.** Genetic Determination Of Piglets Postweaning Survival. Хімія та сучасні технології : тези доповідей V Міжнар. наук.-техн. конф. студентів, аспірантів та молодих учених 20–22 квітня 2011 р. Дніпропетровськ: УДХТУ, 2011. С. 457.

2. **Сыровнев Г.И.,** Кунева Л.В., Сметанин В.Т. Повышение продуктивности и сохранности поросят в постнатальный период при использовании инбредных хряков селекции Днепропетровского СХИ. Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: Збірник наукових праць IX з'їзду УТГіС. К.: Логос, 2012. Т. 3. С. 262–267. *(Здобувачем проведена статистична обробка даних експериментів та підготовка матеріалів до друку).*

3. Кунева Л.В., **Сыровнев Г.И.,** Сметанин В.Т., Степневская Я.В., Ковальчук Л.Н. Сохранение генетической изменчивости в локальных популяциях домашних животных. Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы (к 100-летию со дня рождения академика Н.В. Турбина) : материалы Междунар. науч. Конф. 8–11 октября 2012 г. Минск, 2012. С. 136. *(Здобувач брав участь в обробці даних та інтерпретації отриманих результатів).*

4. **Syrovnev G.I.,** Smetanin V.T. The Effect Of Polymorphism In Mucin 4 (*MUC4*) Gene On Quantitative Traits Of Pigs. Хімія та сучасні технології : тези доповідей VI Міжнар. наук.-техн. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених 24–26 квітня 2013 р. Дніпропетровськ, 2013. С. 13. *(Здобувачем отримано експериментальні дані, виконано статистичну обробку даних та підготовлено матеріали до друку).*

5. **Сыровнев Г.И.** Структура генофонду закритої популяції свиней української м'ясної породи за локусами *FUT1* та *MUC4* : матеріали XI Наук. конф. молодих вчених та аспірантів 16 травня 2013 р. Чубинське: ІРГТ НААН., 2013. С. 74–75.

6. **Сыровнев Г.И.,** Сметанин В.Т. Ветеринарна генетика – запорука екологічно чистого свинарства. Екотрофологія. Прогрес, проблеми, перспективи екологічно безпечного виробництва : матеріали IV міжнар наук.-практ. конф., присвяченої 10-річчю кафедри екотрофології БНАУ 10 жовтня 2013 р. Біла Церква: БНАУ, 2013. С. 106. *(Здобувач брав участь в обробці даних та інтерпретації отриманих результатів та підготував матеріали до друку).*

7. **Сировнєв Г.І.** Генетична обумовленість стійкості поросят до колібактеріозу із різними алельними формами генів *FUT1* та *MUC4*. Актуальні питання технологій тваринництва та ветеринарної медицини : матеріали Всеукр. наук.-практ. інтернет-конф., присвяченої 100-річчю факультету технологій продукції тваринництва та менеджменту 17 грудня 2020 р. Харків: Харківська державна зооветеринарна академія, 2020. С. 63–66.

Відомості про апробацію результатів дисертації

Результати дисертаційних досліджень доповідалися та отримали позитивну оцінку на міжнародних та всеукраїнських наукових конференціях:

– V Міжнародна науково-технічна конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Хімія та сучасні технології», м. Дніпропетровськ, 20–22 квітня 2011 р. (*очна форма – доповідь на секційному засіданні, публікація тез*);

– IX Наукова конференція молодих учених та аспірантів Інституту розведення і генетики тварин НААН «Сучасна методологія, результати досліджень та перспективи виробництва», с. Чубинське, 17 травня 2011 (*очна форма – доповідь на секційному засіданні*);

– VII Міжнародна наукова конференція «Фактори експериментальної еволюції організмів», м. Алушта, 22–26 вересня 2011 р. (*очна форма – доповідь на секційному засіданні*);

– IX з'їзд Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова м. Алушта, 24–28 вересня 2012 р. (*заочна форма – публікація тез*);

– Міжнародна наукова конференція «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы», м. Мінськ, 8–11 жовтня 2012 р. (*очна форма – доповідь на секційному засіданні, публікація тез*);

– VI Міжнародна науково-технічна конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Хімія та сучасні технології», м. Дніпропетровськ, 24–26 квітня 2013 р. (*очна форма – доповідь на секційному засіданні, публікація тез*);

– VIII Міжнародна наукова конференція «Фактори експериментальної еволюції організмів», м. Алушта, 23–27 вересня 2013 р.; (*очна форма – доповідь на секційному засіданні*);

– XI Наукова конференція молодих учених та аспірантів Інституту розведення і генетики тварин НААН, с. Чубинське 16 травня 2013 р. (*очна форма – доповідь на секційному засіданні, публікація тез*);

– Міжнародна конференція «Роль фізіології тварин у вирішенні сучасних проблем аграрної освіти, науки та виробництва», м. Полтава, 22-24 травня 2013 р., (*очна форма – доповідь на секційному засіданні*);

– Міжнародна молодіжна наукова конференція «Нові часи: нові Вавилови, нові Квасницькі», м. Полтава, 22-23 серпня 2013 р. (*очна форма – доповідь на секційному засіданні*);

– IV Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 10-річчю кафедри екотрофології БНАУ, м. Біла Церква, 10 жовтня 2013 р. (*заочна форма – публікація тез*);

– Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція, присвячена 100-річчю факультету технологій продукції тваринництва та менеджменту «Актуальні питання технологій тваринництва та ветеринарної медицини», м. Харків, 17 грудня 2020 р. (*заочна форма – публікація тез*).