

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ВІСНИК
АГРАРНОЇ НАУКИ ПРИЧОРНОМОР'Я
Науковий журнал

*Виходить 4 рази на рік
Видається з березня 1997 р.*

Випуск 1 (93) 2017

**Економічні науки
Сільськогосподарські науки
Технічні науки**

Миколаїв
2017

Засновник і видавець: Миколаївський національний аграрний університет.

Свідоцтво про державну реєстрацію КВ №19669-9469ПР від 11.01.2013 р.

Збірник включено до переліку наукових фахових видань України, затвердженого наказами Міністерства освіти і науки України від 13.07.2015 р. №747 та від 16.05.2016 р. №515.

Головний редактор: В.С. Шебанін, д.т.н., проф., академік. НААН

Заступники головного редактора:

І.І. Червен, д.е.н., проф.
І.П. Атаманюк, д.т.н., проф.
В.П. Клочан, к.е.н., доц.
М.І. Гиль, д.с.-г.н., проф.
В.В. Гамаюнова, д.с.-г.н., проф.

Відповідальний секретар: Н.В. Потриваєва, д.е.н., проф.

Члени редакційної колегії:

Економічні науки: О.В. Шебаніна, д.е.н., проф.; Н.М. Сіренко, д.е.н., проф.; О.І. Котикова, д.е.н., проф.; Джулія Олбрайт, PhD, проф. (США); І.В. Гончаренко, д.е.н., проф.; О.М. Вишневська, д.е.н., проф.; А.В. Ключник, д.е.н., проф.; О.Є. Новіков, д.е.н., доц.; О.Д. Гудзинський, д.е.н., проф.; О.Ю. Єрмаков, д.е.н., проф.; В.М. Яценко, д.е.н., проф.; М.П. Сахацький, д.е.н., проф.; Р. Шаундерер, Dr.sc.Agr. (Німеччина)

Технічні науки: Б.І. Бутаков, д.т.н., проф.; В.І. Гавриш, д.е.н., проф.; В.Д. Будак, д.т.н., проф.; С.І. Пастушенко, д.т.н., проф.; А.А. Ставинський, д.т.н., проф.; А.С. Добишин, д.т.н., проф. (Республіка Білорусь).

Сільськогосподарські науки: В.С. Топіха, д.с.-г.н., проф.; Т.В. Підпала, д.с.-г.н., проф.; А.С. Патрєва, д.с.-г.н., проф.; В.П. Рибалко, д.с.-г.н., проф., академік НААН; І.Ю. Горбатенко, д.б.н., проф.; І.М. Рожков, д.б.н., проф.; І.П. Шейко, д.с.-г.н., професор, академік НАН Республіки Білорусь (Республіка Білорусь); С.Г. Чорний, д.с.-г.н., проф.; М.О. Самойленко, д.с.-г.н., проф.; Л.К. Антипова, д.с.-г.н., проф.; В.І. Січкар, д.б.н., проф.; А.О. Лимар, д.с.-г.н., проф.; В.Я. Щербаков, д.с.-г.н., проф.; Г.П. Морару, д.с.-г.н. (Молдова)

Рекомендовано до друку вченому радою Миколаївського національного аграрного університету. Протокол № 7 від 28.02.2017 р.

Посилання на видання обов'язкові.

Точка зору редколегії не завжди збігається з позицією авторів.

Адреса редакції, видавця та виготовлювача:

54020, Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9,

**Миколаївський національний аграрний університет,
тел. 0 (512) 58-05-95, <http://visnyk.mnau.edu.ua>, e-mail: visnyk@mnau.edu.ua**

**© Миколаївський національний
аграрний університет, 2017**

UDC 636.4.082.25:575.22

GENETIC POLYMORPHISM OF THE RED WHITE BELTED BREED PIGS BASED ON MICROSATELLITE MARKERS

S. Lugovoy, PhD (Agr.), Ass. Professor

S. Kramarenko, DSc (Biol.), Ass. Professor

S. Galimov, PhD (Agr.), Ass. Professor

Mykolayiv National Agrarian University

The aim of this study was to analyze the genetic variability and population structure of the Red White Belted breed pigs. Twelve microsatellite loci were selected and belong to the list of microsatellite markers recommended by FAO/ISAG. The number of observed alleles (Na) detected ranged from 4 to 8, with an overall mean of 6.67 and a total of 80 alleles were observed at these loci. The overall means for observed (Ho) and expected (He) heterozygosities were 0.649 and 0.693, respectively. The population effective size (Ne) estimate based on LD-method is 59.2 (95% CI: 36-129) individuals. This population has not undergone any recent and/or sudden reduction in the effective population size and remained at mutation-drift equilibrium.

Key words: genetic polymorphism, microsatellite loci, pigs, the Red White Belted breed.

The Red White Belted breed pigs was established from 1976 to 2007 at the Institute of Pig Breeding and Agro-industrial Production of the National Academy of Agricultural Sciences (Poltava, Ukraine) through complex crossing methods, which comprised the Duroc (43.75%), the Poltava Meat (21.88%), the Hampshire (21.87%), the Landrace (6.25%) and the Large White (6.25%) pigs. This synthetic breed retains the white belt characteristic of the Hampshire breed and the red coat color of the Duroc breed [1].

Analysis of the recent research and publications. The Red White Belted pigs reach a live weight of 100 kg in 185 days [1]. According to I. Bankovska and J. Sales [2], the Red White Belted pigs present comparable carcass lean contents to the Landrace and the Large White pigs, notwithstanding lower carcass yields and greater backfat thickness. Greater ($p < 0.05$) pH values were measured at 24 hours post-mortem in the *musculus longissimus thoracis et lumborum* of the Red White Belted pigs compared

to the Landrace. In recent years, knowledge of the commercial and local pig resources of the Ukraine has increased, following a similar trend in other countries. However, to date no studies have been done on the Red White Belted pig population to understand the population diversity and structure at molecular level.

Aim. Thus, the aim of this study was to analyze the genetic variability and population structure of the Red White Belted pig population by using microsatellite markers.

Methods of research. A total of 46 pigs representing the Red White Belted pig breed were sampled. The animals belonged to the breeding group of the agricultural private enterprise (APE) "Tehmet-Yuh" located in Mykolayiv region, Ukraine.

PCR analysis was carried out on DNA extracted from 46 ethanol-fixed small pieces of ear tissue samples. A DNA extraction using the Nexttec Clean Column kit (Nexttec, Leverkusen, Germany) according to the manufacturer's instructions was performed. Twelve microsatellite loci which presented reliable amplification standards (SW24, S0155, SW72, SW951, S0386, S0355, SW240, SW857, S0101, SW936, SW911 and S0228) were selected and belong to the list of microsatellite markers recommended by FAO/ISAG. The adopted strategy for the selection of the loci was to represent most of the autosomic pig chromosome.

Electrophoresis was carried out using an ABI 3130×1 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). Allele sizes of each microsatellite were determined using GeneMapper ver. 4.0 (Applied Biosystems). All the samples were stored in the DNA Bank of the Laboratory of All-Russian Science Institute of Animal Husbandry named after L. K. Ernst, where this experiment was developed.

GenAIEx version 6.5 [3] was used to calculate the allele frequencies, effective number of alleles (A_e), observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity, within-population inbreeding estimate (F_{is}), Shannon's information index (I_{sh}). GENEPOP version 4.2 [4] was used to perform deviations from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) per locus using Markov chain algorithm implemented according to authors recommendation with 10,000 dememorizations, 200 batches and 5,000 interactions per batch.

The BOTTLENECK (version 1.2.03) [5] analysis was performed to know whether this pig population exhibits a significant number of loci with excess of heterozygosity. Genetic diversity was assessed by effective population size (N_e) and it was calculated by linkage disequilibrium method (LD-method), as implemented in the software package NeEstimator v. 2.01 [6].

Results of research. The genetic diversity parameters in the Red White Belted pig population, such as allele number, effective number of allele, observed and expected heterozygosity, within-population inbreeding estimate (F_{is}) and Shannon's information index are presented in Table 1.

Table 1

Microsatellite analysis in the Red White Belted pig population

| Locus | n | N_a | A_e | I_{Sh} | H_o | H_e | F_{is} | HWE |
|-------|----|-------|-------|----------|-------|-------|----------|-----|
| SW24 | 44 | 8 | 4.96 | 1.77 | 0.727 | 0.799 | 0.089 | * |
| S0155 | 46 | 8 | 4.91 | 1.76 | 0.739 | 0.796 | 0.072 | ns |
| SW72 | 46 | 6 | 3.61 | 1.41 | 0.848 | 0.723 | -0.173 | * |
| SW951 | 46 | 4 | 1.51 | 0.70 | 0.304 | 0.339 | 0.101 | ns |
| S0386 | 44 | 7 | 3.48 | 1.48 | 0.477 | 0.713 | 0.330 | *** |
| S0355 | 44 | 7 | 1.98 | 1.07 | 0.409 | 0.495 | 0.173 | *** |
| SW240 | 38 | 6 | 4.22 | 1.55 | 0.763 | 0.763 | 0 | ns |
| SW857 | 45 | 8 | 3.69 | 1.56 | 0.800 | 0.729 | -0.097 | ns |
| S0101 | 46 | 4 | 2.85 | 1.15 | 0.630 | 0.649 | 0.029 | ns |
| SW936 | 46 | 6 | 3.32 | 1.39 | 0.783 | 0.699 | -0.120 | ns |
| SW911 | 22 | 8 | 4.40 | 1.65 | 0.545 | 0.773 | 0.294 | ** |
| S0228 | 46 | 8 | 6.06 | 1.90 | 0.761 | 0.835 | 0.089 | ** |

* – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$; ns – $p > 0.05$.

All the loci studied were polymorphic. Overall allele frequency values ranged from 0.011 to 0.804 (at allele SW951120).

The number of observed alleles (N_a) detected ranged from 4 (SW951 and S0101) to 8 (SW24, S0155, SW857, SW911 and S0228), with an overall mean of 6.67 ± 0.43 and a total of 80 alleles were observed at these loci. However, the effective number of alleles (A_e) ranged from 1.51 (SW951) to 4.91-4.96 (S0155 and SW24) with a mean of 3.75 ± 0.37 . Shannon's information index (I_{Sh}) which

measures the level of diversity, was sufficiently high – from 0.70 (for SW951) to 1.90 (for S0228) – with a mean of 1.45 ± 0.10 .

The overall means for observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosities were 0.649 ± 0.051 and 0.693 ± 0.041 , respectively, which ranged from 0.304 (SW951) to 0.848 (SW72) and 0.339 (SW951) to 0.835 (S0228), respectively. Of the 12 microsatellites analyzed using Fisher's exact test, 50% were in Hardy-Weinberg equilibrium, and 6 were out of equilibrium ($p < 0.05$).

The within-population inbreeding estimates (F_{is}) observed at 9 loci were positive (or equal to zero) and three loci revealed negative with a mean of 0.066 ± 0.044 indicating non-significant heterozygosity shortage in the Red White Belted pig population.

Three mutation models namely, infinite allele model (I.A.M.), two phase model (T.P.M.), stepwise mutation model (S.M.M.) were estimated using the BOTTLENECK software (Table 2). The results are indicated that the Red White Belted pig population is non-bottlenecked and remained at mutation-drift equilibrium.

Table 2
Bottleneck analysis in the Red White Belted pig population

| Model | Sign rank test – Number of loci with heterozygosity excess | | |
|--------|--|----------|-------------|
| | Expected | Observed | Probability |
| I.A.M. | 7.12 | 8 | 0.419 |
| T.P.M. | 7.11 | 6 | 0.355 |
| S.M.M. | 7.08 | 4 | 0.067 |

Effective population size (N_e) is an useful criterion in classifying a breed population in view of degree of endangerment [7]. For the Red White Belted pig population effective population size estimate based on LD-method is 59.2 (95% CI: 36-129) individuals.

The mean number of alleles per population (6.67) in the study is less than the mean number reported for Brazilian (8.96) [8] and Chinese (13.31) [9] pig breeds. According to R. Ayizanga et al. [10] for four Ghanaian local pig breeds, the mean number of alleles per population ranged from 5.75 for the Tingoli population to 10.60 recorded for the pigs sampled from Papu with an overall mean of 8.43 alleles. However, for the Red White Belted pig population,

the mean number of alleles observed is higher than the mean number reported Indian native pig breeds – Meghalaya – 3.90; [11], Ghungroo – 4.90 [12], Doom – 5.45 [13].

Factors such as the level of inbreeding, population size, the history or origin of the breeding population, the level of selection pressure and the rate of mutation and husbandry practices affect the genetic diversity of populations [14]. For the Red White Belted pig effective population size (estimated by the LD-method) is 59.2 (95% CI: 36-129) individuals. A value is similar to some local breeds – Brazilian Moura pig ($N_e = 30$; [15]), Cinta Senese pig from Italia ($N_e = 40$; [16]), Iberian local pigs ($N_e = 46-151$; [17]). Thus, effective population size in the Red White Belted pig breed is clearly under the threshold defined by FAO ($N_e = 50-100$).

Conclusions. The study stands first in genetic characterization of the Red White Belted pig population through 12 microsatellite markers. The various parameters and values used to quantify genetic variability, such as the high mean (and effective) number of alleles and the expected and observed heterozygosities, indicated moderate genetic variability in the Ukrainian Red White Belted pigs. The population effective population size (N_e) estimate based on LD-method is 59.2 (95% CI: 36-129) individuals. This population has not undergone any recent and/or sudden reduction in the effective population size and remained at mutation-drift equilibrium.

Acknowledgement. This study was performed with financial support of the Ministry of Education and Science of Ukraine (No. 0116U004760).

References:

1. Genofond natsionalnykh porod sviney Ukrayiny, ikh sozdateli i sovremennoye koordinatory / [V. P. Rybalko, A. A. Getya, V. I. Gerasimov i dr.] // Poltava, Poltavskiy literator, 2011. – 156 s.
2. Bankovska I. Carcass, meat and fat quality characteristics of Ukrainian red white belted pigs compared to other commercial breeds // I. Bankovska, J. Sales // Slovak Journal of Animal Science. – 2015. – V. 48(1). – P. 23-28.
3. Peakall R. O. D. GENAIEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // R. O. D. Peakall, P. E. Smouse // Molecular Ecology Notes. – 2006. – V. 691. – P. 288-295.
4. Rousset F. GENEPOL'007: a complete re-implementation of the GENEPOL software for Windows and Linux / F. Rousset // Molecular Ecology Resources. – 2008. – V. 8. – P. 103-106.
5. Cornuet J. M. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data / J. M. Cornuet, G. Luikart // Genetics. – 1996. – V. 144. – P. 2001-2014.

6. NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data // [C. Do, R. S. Waples, D. Peel et al.] // Molecular Ecology Resources. – 2013. – V. 14. – P. 209–214.
7. Meuwissen T. H. E. Effective sizes of livestock populations to prevent a decline in fitness / T. H. E. Meuwissen, J. A. Woolliam // Theoretical and Applied Genetics. – 1994. – V. 89. – P. 1019-1026.
8. Genetic diversity of Brazilian pig breeds evidenced by microsatellite markers / B. P. Sollero, S. R. Paiva, D. A. Faria [et. al.] // Livest. Sci. – 2008. – doi:10.1016/j.livsci.2008.09.025.
9. Genetic variation and relationships of eighteen Chinese indigenous pig breeds / S. Yang, Z. Wang, B. Liu [et. al.] // Genetic Selection Evolution. – 2003. – Vol. 35. -P. 657-671.
10. Genetic diversity of some Ghanaian pigs based on microsatellite markers / R. A Ayizanga, B. B. Kayang, K. Adomako // Livestock Research for Rural Development. – 2016. – Vol. 28.
11. Zaman G. Molecular characterization of Meghalaya local pigs (Niang Megha) using microsatellite markers / G. Zaman, M. C. Shekar, A. Aziz // Indian Journal of Science and Technology. – 2013. – Vol. 6. – P. 5302-5306.
12. Molecular characterization of Ghungroo pig / G. Zaman, M. Chandra Shekar, A. M. Ferdoci [et. al.] // International Journal of Animal Biotechnology. – 2013. – Vol. 3. – P. 1-4.
13. Molecular characterization of Doom pigs using microsatellite markers / G. Zaman, S. Laskar, A. M. Ferdoci [et. al.] // African Journal of Biotechnology. – 2014. – Vol. 13 (30). – P. 3017-3022.
14. Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal assessed by microsatellites / [A. A. Vicente, M. I. Carolino, M. C. O. Sousa et al.] // Journal of Animal Science. – 2008. – V. 86. – P. 2496-2507.
15. Pedigree and population viability analyses of a conservation herd of Moura pig / [H. Carneiro, S. R. Paiva, M. Ledur et al.] // Animal Genetic Resources. – 2014. V. 54. – P. 127-134.
16. Pedigree analysis of Cinta Senese and Mora Romagnola breeds / [A. Crovetti, F. Sirtori, C. Pugliese et al.] // Acta agriculturae Slovenica. – 2013. – V. 4. – P. 41-44.
17. Conservation genomic analysis of domestic and wild pig populations from the Iberian Peninsula / [J. M. Herrero-Medrano, H. J. Megens, M. A. Groenen et al.] // BMC genetics. – 2013. – V. 14 (106). – P. 1-13.

С. І. Луговий, С. С. Крамаренко, С. М. Галімов. Генетичний поліморфізм свиней червоної білопоясої породи на підставі мікросателітних маркерів.

Метою даного дослідження був аналіз генетичної мінливості та структури популяції свиней червоної білопоясої породи. Були відібрані дванадцять мікросателітних локусів (SW24, S0155, SW72, SW951, S0386, S0355, SW240, SW857, S0101, SW936 SW911 i S0228), які включено до списку маркерів, рекомендовані ФАО/ISAG. У кожному локусі кількість алелів (Na) варіювала від 4 до 8 при загальному середньому значенні 6,67; загалом було виявлено 80 алелів. Середні значення фактичної (No) та очікуваної (Ne) гетерозиготності становили 0,649 і 0,693, відповідно. Оцінка ефективної чисельності популяції (Ne), розрахована за LD-методом, склала 59,2 особин (95% ДІ: 36-129). Ця популяція не зазнала будь-яких недавніх і/або раптових скорочень ефективної чисельності і перебуває в стані рівноваги між мутаційним процесом і дрейфом генів.

Ключові слова: генетичний поліморфізм, мікросателітні локуси, свині, червона білопояса порода.

С. И. Луговой, С. С. Крамаренко, С. Н. Галимов. Генетический полиморфизм свиней красной белопоясой породы на основании микросателлитных маркеров.

Целью данного исследования был анализ генетической изменчивости и структуры популяции свиней красной белопоясой породы. Были отобраны двенадцать микросателлитных, которые относятся к списку маркеров, рекомендованных ФАО/ISAG. В каждом локусе количество аллелей (N_a) варьировало от 4 до 8 при общем среднем значении 6,67; в общей сложности было обнаружено 80 аллелей. Средние значения наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности составили 0,649 и 0,693, соответственно. Оценка эффективной численности популяции (N_e), рассчитанная по LD-методу, составила 59,2 особей (95% ДИ: 36-129). Данная популяция не претерпела каких-либо недавних и/или внезапных сокращений эффективной численности и пребывает в состоянии равновесия между мутационным процессом и дрейфом генов.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, микросателлитные локусы, свиньи, красная белопоясая порода.

ЗМІСТ

ЕКОНОМІЧНІ НАУКИ

| | |
|---|----|
| V. Klochan, I. Bezryata, N. Zingaieva. The sunflower oil market of Ukraine and its development | 3 |
| I. I. Червен, С. І. Павлюк. Роль агрохолдизації у соціально-економічному розвитку сільських територій України..... | 14 |
| О. І. Котикова. Індикація екологічного стану сільськогосподарського землекористування в Україні: соціальний блок | 26 |
| Ю. В. Ушкаренко. Особливості формування економічного потенціалу підприємств у сучасних умовах | 38 |
| Ю. А. Кормишкін. Система показників та чинників ефективного розвитку аграрного підприємництва | 47 |
| А. Грек. Сучасний стан матеріально-технічного забезпечення сільськогосподарських підприємств Київської області | 61 |
| А. Ю. Стренковська. Теоретичні основи організаційно-економічного механізму розвитку будівництва в сільській місцевості. | 72 |

СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКІ НАУКИ

| | |
|---|-----|
| Л. К. Антилова. Поглинання елементів живлення бур'янами залежно від технологій вирощування люцерни насіннєвого призначення | 79 |
| Г. М. Господаренко, С. П. Полторецький, В. В. Любич, Н. В. Воробйова, І. Ф. Улянич, М. М. Капрій. Характеристика твердості та міцності зернівок пшеници спельти залежно від сорту та лінії. | 86 |
| В. В. Рогач, О. В. Кушнір, В. В. Плотніков. Вплив рістстимулаторів Вітазиму та 6-бензиламінопурину на морфогенез та продуктивність перцю солодкого..... | 95 |
| О. Л. Рудік, І. М. Мринський. Продуктивність льону олійного за впровадження технологій подвійного використання культури | 102 |

| | |
|--|-----|
| S. Lugovoy, S. Kramarenko, S. Galimov. Genetic polymorphism of the red white belted breed pigs based on microsatellite markers | 113 |
| B. M. Волощук, B. M. Герасимчук. Показники мікроклімату у відділенні для дорощування поросят залежно від способу вентилювання приміщення | 120 |
| O. I. Петрова, O. M. Сморочинський, P. O. Трибрат. Використання яловичини, одержаної від тварин різних вагових кондіцій для виробництва ковбас | 129 |
| A. B. Лихач. Реалізація поведінкових актів холостими свиноматками різних генотипів | 136 |
| B. A. Кириченко, C. P. Ком, K. B. Скрепець. Зв'язок молекулярно-генетичних маркерів з класністю овець | 144 |
| O. С. Крамаренко, I. В. Довгопола. Особливості генетичної структури південної м'ясної породи худоби за локусами мікросателітів ДНК: TGLA53, TGLA122, TGLA126 ТА TGLA227 | 151 |
| A. O. Погорєлова. Вплив температурного та світлового режимів утримання на формування статі у кролів спеціалізованих м'ясних порід | 164 |

ТЕХНІЧНІ НАУКИ

| | |
|---|-----|
| O. Kyrychenko. Simulation of electromagnetic field characteristics for metal conductive buses with rectangular cross-section | 171 |
| M. B. Дубницька. Систематизація методичних підходів до отримання тривимірної інформації про водні об'єкти | 181 |
| D. O. Захаров. Сучасний стан застосування електрофізичних методів бактерицидної та інсектицидної обробки зернової продукції | 193 |