

тверждается при  $P < 0,001$ .

Высокие показатели воспроизводительных качеств маточного стада, значительное число животных и опоросов, полученных от них, подтверждают проведение эксперимента на достаточно высоком зоотехническом фоне при существенной достоверности полученных результатов. Наши данные хорошо согласуются с результатами другого исследования [2].

**Выводы:** 1. Основные репродуктивные качества хряков при естественной случке зависят от возраста их использования и увеличиваются до 24 мес. В дальнейшем происходит их значительное снижение.

2. Оптимальный возраст случки хряков составляет 18-30 мес.

3. После достижения хряками 3-летнего возраста рекомендуется проводить проверку и анализ их репродуктивных качеств не реже 1 раза в квартал и оставлять работать в стаде после достижения 36 мес. необходимо только высокопродуктивных хряков.

4. Фактор снижения продуктивности хряков после достижения ими 30-месячного возраста предлагаем использовать для планирования завоза ремонтных хрячков на перспективу.

#### Литература

1. Антонюк В.С. Биотехнические способы повышения эффективности оплодотворения сельскохозяйственных животных. – Мн.: Ураджай, 1988. – 198 с.

2. Богданович Д.М. Совершенствование метода комплексной оценки спермы хряков-производителей с использованием акроскопического теста: Автореф. дис... канд. с.-х. наук. – Жодино, 2004. – 17 с.

3. Зайцев В.В. Взаимосвязь андрологических показателей с результативностью осеменения // Селекция, кормление, содержание сельскохозяйственных животных и технология производства продуктов животноводства. – Лесные поляны, 1998. – Вып. 5. – С. 103-105.

УДК 636.4.082.12

## **ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЭСТРОГЕНОВОГО И ПРОЛАКТИНОВОГО РЕЦЕПТОРОВ В ПОПУЛЯЦИИ СВИНЕЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ**

Н.В. РЫЖОВА, кандидат биологических наук

Л.А. КАЛАШНИКОВА, доктор биологических наук

Е.А. ЧЕРЕКАЕВА, кандидат сельскохозяйственных наук

Всероссийский институт племенного дела, Россия

Резюме. Исследована популяция крупной белой породы свиней (заводской тип «КБ-КН»,  $n=121$ ) по полиморфизму генов эстрогенового и пролактинового рецепторов, влияющих на размеры гнезда у свиней. Частота аллеля А гена эстрогенового рецептора со-

ставила 0,58, аллеля В - 0,42. Для гена пролактинового рецептора частота аллеля А была равна 0,48, аллеля В - 0,42.

Ключевые слова: свиньи, крупная белая порода, эстрогеновый рецептор, пролактиновый рецептор.

**Введение.** Эффективность производства продукции в свиноводстве в основном определяется успехами воспроизводства. Свыше 40 последних лет в свиноводстве размеры гнезда пытаются увеличить с помощью селекционных программ с использованием высокопродуктивных линий свиноматок и методов гибридизации. Успешные результаты по увеличению размеров гнезда отмечались при отборе свиноматок по высокой плодовитости [2] и по индексу степени овуляции и выживаемости эмбрионов [6].

Благодаря развитию молекулярной биологии стало возможным выявлять индивидуальные гены, контролирующие репродуктивные признаки, определять их полиморфизм и использовать в селекциях в качестве маркеров воспроизводства. Генное влияние на размеры гнезда обнаружили для гена *Booroola* у овец [5], гена эстрогенового рецептора (ESR) у свиней [8], гена пролактинового рецептора у свиней (PRLR) [9].

При исследовании полиморфизма гена ESR у крупной белой породы свиней были получены данные о наличии аддитивного эффекта по аллелю В (0,5 поросенка на гнездо) [7, 10]. Согласно результатам других исследователей [9], ген PRLR был связан с размерами гнезда в трех из пяти анализируемых линий и имел значительный аддитивный эффект по данному признаку (0,55 при  $P < 0,05$ ).

Целью нашего исследования было изучить с помощью метода ПЦР-ПДРФ полиморфизм генов ESR и PRLR, связанных с показателями воспроизводства у свиней крупной белой породы.

**Материалы и методика исследований.** Объектом исследования являлись свиньи заводского типа «КБ-КН» крупной белой породы, разводимые в ЗАО ПЗ «Константиново» Домодедовского района Московской области.

Пробы ткани были взяты у свиней разного пола: у 11 хряков-производителей и у 110 свиноматок. Пробы ткани не консервировали. Образцы транспортировали при температуре 00С - +40С в течение 1 суток. Ядерную ДНК выделяли из кусочков уха свиней фенольно-детергентным методом [1]. Концентрацию и нативность ДНК определяли в 1%-ном агарозном геле электрофоретическим методом при напряжении 40 В в течение 1-2 часов. ДНК визуализировали после окраски бромистым этидием (0,05 %) на трансиллюминаторе в УФ-свете с помощью компьютерной видеосистемы.

Аmplификацию фрагмента ESR-гена проводили по методу Short et.

al. [7]. Для ПЦР синтезировали два олигонуклеотидных праймера следующего состава: 5' – CCT GTT TTT ACA GTG ACT TTT ACA GAG-3' и 5'-CAC TTC GAG GGT CAG TCC AAT TAG-3'.

Аmplификацию фрагмента PRLR-гена проводили по методу Linville R.C. [3]. Для ПЦР синтезировали праймеры: 5' - CGG CCG CAG AAT CCT GCT TGC – 3' и 5' - ACC CCA CCT TGT AAC CCA TCA TCC – 3'.

Для проведения ПЦР фрагмента генов ESR и PRLR 200 нг (1 мкг) геномной ДНК в каждом отдельном случае смешивали с 2,5 мкл 10x буфера (670 mM трис- HCl, pH=8,8 ; 160 mM бисульфата натрия либо 166 mM сульфата аммония, 0,1 % Tween 20, 25 mM хлористого магния), 2 mM дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (0,5 mM каждого), 15 пМ праймеров, 2,5 ед. активности термостабильной Tag-полимеразы (Fermentas, Вильнюс). Объем доводили до 25 мкл. Препарат Taq-полимеразы находился в растворе, содержащем 10 mM калийфосфатного буфера, pH= 7,5; 100 mM KCl; 0,5 % NP-40; 0,5 % Tween 20; 0,5 mM дитиотрейтола; 50 % глицерина. Пробирки объемом 0,5 мл с 25 мкл реакционной смеси помещали в термоциклер (СТМ, Москва) для проведения 30-32 циклов амплификации.

Для амплификации фрагмента гена ESR использовали режим: «горячий старт» – 5 мин при 94 °С, денатурация – 1 мин при 94 °С, отжиг – 1 мин при 55 °С, элонгация – 1 мин при 72 °С, достройка матрично-праймерных комплексов проходила при 72 °С 8 мин.

Для амплификации фрагмента гена PRLR использовали режим: «горячий старт» – 5 мин при 94 °С, денатурация – 1 мин при 94 °С, отжиг – 1 мин при 55 °С, элонгация – 1 мин при 72 °С, достройка матрично-праймерных комплексов проходила 5 мин при 72 °С.

Концентрацию и специфичность амплификатов оценивали электрофоретическим методом в 2%-ном агарозном геле при напряжении 40В в течение часа. В качестве маркера использовали ДНК плазмиды pBR322, расщепленной рестриктазой Alu I. Продукты ПЦР гена ESR, проверенные на концентрацию и специфичность, расщепляли рестриктазой Pvu II, гена PRLR – рестриктазой Alu I. Результаты рестрикции разделяли электрофоретическим методом при напряжении 40 В в 4%-ном агарозном геле в течение двух часов. В качестве маркера использовали ДНК плазмиды pBR 322, расщепленную рестриктазой Alu I. Визуализировали амплифицированные фрагменты исследуемых генов и результаты рестрикции амплификатов с помощью трансиллюминатора в проходящем УФ-свете с длиной волны 260 нм.

Ожидаемые значения частот генотипов в популяции свиней рассчитывали по закону Харди-Вайнберга. Для обработки полученных данных применяли стандартные статистические методы.

Таблица 1

## Полиморфизм генов ESR и PRLR в популяции свиней крупной белой породы

Ген	Группы животных	n	Распределение	Частота генотипов, %				Частота аллелей		$\chi^2$
				AA	AB	BB	A	B		
ESR	хряки	11	H	0	90,9	9,1	0,45	0,55	49,60	
			O	20,3	49,5	30,2				
	свиноматки в целом	121	H	33,6	50,9	15,5	0,59	0,41	0,08	
O			34,8	48,4	16,8					
PRLR	хряки	10	H	10,0	40,0	50,0	0,30	0,70	0,04	
			O	9,0	42,0	49,0				
	свиноматки в целом	113	H	26,2	46,6	27,2	0,50	0,50	0,48	
O			25,0	50,0	25,0	0,48	0,52			
				24,8	46,0	29,2				
				22,1	49,8	28,1				

**Результаты эксперимента и их обсуждение.** В исследованных группах свиней заводского типа «КБ-КН» крупной белой породы найден полиморфизм генов ESR и PRLR (табл.1).

В целом для изученной популяции частота аллеля А гена ESR составила 0,58, аллеля В – 0,42. Частота аллеля А в группе хряков-производителей несколько ниже, а аллеля В – выше, чем у свиноматок. В исследуемой популяции свиней в целом, а также в группе основных свиноматок не выявлено нарушение генетического равновесия ни по одному из генотипов гена ESR. В группе хряков-производителей наблюдается смещение генетического равновесия в сторону преобладания гетерозиготного генотипа АВ по гену ESR.

Имеются значительные различия по частоте встречаемости генотипов гена ESR в группе хряков и свиноматок. У хряков гомозиготный генотип АА не выявлен, 10 хряков являются гетерозиготами, 1 хряк обладает гомозиготным генотипом ВВ. Половина свиноматок является гетерозиготами (56 голов), 37 свиноматок имеет гомозиготный генотип АА, 17 – генотип ВВ.

Частота аллеля В (0,52) гена PRLR в изученной популяции свиней незначительно превышает частоту аллеля А (0,48). В группе свиноматок частота аллеля А равна частоте аллеля В. В то же время, частота аллеля В в группе хряков производителей в 1,4 раза больше таковой в группе свиноматок. Не выявлено смещение генетического равновесия ни по одному из генотипов гена PRLR.

По данным зарубежных исследователей, частота аллеля В гена ESR в зависимости от популяции крупной белой породы свиней варьирует от 0,4 до 0,57 [4, 7, 8]. Наши данные находятся в пределах указанного диапазона изменчивости показателя.

**Выводы.** Полученные результаты частоты встречаемости аллеля В гена PRLR (0,55) согласуются с зарубежными данными (от 0,58 до 0,81) по крупной белой породе. Наблюдается тенденция преобладания частоты аллеля В над частотой встречаемости аллеля А гена PRLR.

#### Литература.

1. Blin N., Stafford D.W. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes // Nucl.Acids Res. – 1976. – Vol. 3. – P. 2303-2308.
2. Bidanel J.P., Gruand J., Legault C. An overview over twenty years of selection for litter size in pigs using «Hyperprolific» schemes // Proc. 5th World Congr. Genet. Appl. Livestoc Prod. – 1994. – Vol. 17. – P. 512-515.
3. Linville R.C., Pomp D., Johnson R.K. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine // J. Anim. Sci. – 2001. – Vol. 79. – P. 60-67.
4. Leeds T.M., Irvin K.M., Moeller S.J. The association between the estrogen receptor locus and growth, carcass, and developmental traits in pigs // J. Research and Reviews. – 2001. – P. 87-91.
5. Montgomery G.W., McNatty K.P., Davis G.H. Physiology and molecular genetics of mutation that increase ovulation rate in sheep // Endocr. Rev. – 1992. – Vol. 13. – P. 309.

6. Neal S.M., Jonsnon R.K., Kittok R.J. Index selection for components of litter size in swine: Response of five generations of selection // J. Anim. Sci. – 2001. – Vol. 67. – P. 1931.
7. Short T.H., Rothschild M.F., Southwood O.I. Effect of the ESR Locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines // J. Anim. Sci. – 1997. – Vol. 75. – P. 3138-3142.
8. Rothschild M.F., Larson R. G., Jacobson C.D., Pearson P. Full polymorphisms at the porcine estrogen receptor locus (ESR) // Anim. Genet. – 1991. – Vol. 22. – P. 448.
9. Vincent J.D. et al. The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs // Proc. 6th World Congr. Genet. Appl. Livest., Armidale. – Australia. – 1998. – P. 15-18.
10. Rothschild M.F. Genetics and reproduction in the pigs // Anim. Reprod. Sci. – 1996. – P. 143-151.

УДК 619:616.98-636.4

## **ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ВИРУСА РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА СВИНЕЙ В РЕПРОДУКТИВНОЙ ПАТОЛОГИИ СВИНОМАТОК**

Т.А. САВЕЛЬЕВА, кандидат ветеринарных наук

А.С. ЯСТРЕБОВ, доктор ветеринарных наук

И.А. ПУНТУС

В.Т. САКОВИЧ, кандидат ветеринарных наук

Н.В. МОСКАЛЕВА, кандидат ветеринарных наук

Г.И. ЖИХ, Т.Н. БУРКУН

РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесского Национальной академии наук Беларуси»

Резюме. Одним из этиологических агентов репродуктивной патологии свиноматок является вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней (РРСС). Результаты исследований свидетельствуют о широкой циркуляции вируса в свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь.

Ключевые слова: свиноматки, репродуктивно-респираторный синдром, вирус, диагностика, культура клеток.

**Введение.** Последние десятилетия прошлого столетия характеризовались появлением новых, ранее неизвестных, вирусных болезней.

Особое внимание заслуживают болезни органов воспроизводства, проявляющиеся абортными и прохолостами у свиноматок, появлением мумифицированных, мертворожденных, уродливых и нежизнеспособных поросят. Клиническое проявление заболевания и анализ эпизоотической ситуации в хозяйствах позволяют предполагать возникновение таких опасных инфекций, как классическая чума свиней, болезнь Ауески, парвовирусная и энтеровирусная инфекции, трансмиссивный гастроэнтерит, репродуктивно-респираторный синдром, циркуляторную инфекцию [2, 3].