

М.Е. МИХАЙЛОВА¹, В.И. БЕЗЗУБОВ², Н.А. КАМЫШ¹,
С.Г. ГОЛЕНЧЕНКО¹, Н.М. ВОЛЧОК¹, Г.И. АНКУДОВИЧ³,
В.А. ДВОРНИК⁴

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ СВИНЕЙ ПО ГЕНУ H-FABP, ОТВЕТСТВЕННОМУ ЗА СОДЕРЖАНИЕ ВНУТРИМЫШЕЧНОГО ЖИРА

¹ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук
Беларуси»,

²РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

³КУСХП «Северный», Витебской обл., Республика Беларусь

⁴КУСП «Заря», Гомельской обл., Республика Беларусь

Введение. С развитием молекулярной генетики становится возможной идентификация генов, напрямую или косвенно связанных с хозяйственно-полезными признаками. Выявление предпочтительных с точки зрения селекции вариантов таких генов позволяет дополнительно к традиционному отбору животных, например, по содержанию жира в молоке, по уровню удоя и т. п., проводить селекцию по генотипу. Прогресс в изучении генома животных и разработка новых методов молекулярно-генетического анализа предоставили практическую возможность использования ДНК-маркеров в селекции племенных животных, что предполагает возможность определения их генетического потенциала. Выявлен спектр генов, оказывающих прямое или косвенное влияние на развитие признаков продуктивности животных: ген эстрогенового рецептора (ER) – отвечает за плодовитость, ген E.coli рецептора (E.coli K88) – за чувствительность поросят к диарее, вызываемой кишечной палочкой; ген рианодинового рецептора (RYR1) – за повышенную чувствительность к стрессам; ген H-FABP – за содержание внутримышечного жира [1, 2].

FABP (fatty acid-binding proteins) – мультигенное семейство белков, связывающих жирные кислоты. В настоящий момент известны 8 разновидностей комплекса FABP, выявленные в тканях печени (L), сердца и мышц (H), жировых клетках (A), эпидермиса (E), мозга (B), миелина (M), кишечника (I), семенников (T) [8]. Гены данного семейства активно изучаются у человека как факторы риска сердечнососудистых заболеваний и у свиней как факторы качества мясной продукции. H-FABP, экспрессирующийся в сердце и скелетных мышцах, отвечает за

внутриклеточный транспорт жирных кислот, играет одну из ключевых ролей в липидном обмене и считается основным претендентом в маркеры качества мяса.

Потребителей, прежде всего, интересует питательная ценность мясной продукции и её качественные показатели, один из них – содержание внутримышечного жира. Присутствие жировых прожилок в постном мясе (так называемое «мраморное мясо») даёт возможность получить изысканный букет готового мясного продукта в сочетании с нежными вкусовыми качествами и сочностью мяса [9]. Поэтому такие гены как Adipocyte-FABP (A-FABP) и Heart-FABP (H-FABP) изучаются как гены-кандидаты, оказывающие основное влияние на отложение внутримышечного жира у свиней. На сегодняшний день в гене H-FABP известно, по крайней мере, 3 сайта полиморфизма, которые легко детектируются с помощью исследования ПДРФ спектров, которые получаются после обработки соответствующей рестриктазой (HinfI выявляет так называемый H-полиморфизм, HaeIII – D-полиморфизм, MspI – A-полиморфизм). Все мутации являются молчащими [4, 5].

Наиболее стабильно и эффективно проявляются аллельные варианты H-полиморфного участка гена H-FABP, поэтому популяционно-генетические исследования с его использованием являются весьма популярными. На сегодняшний день скрининг популяций свиней на наличие различных H-аллелей проведён в таких странах, как Польша, Чехия, Россия. Исследования на наличие D-полиморфизма, который даёт менее стабильные и яркие результаты, были проведены в Англии, США и некоторых других западных странах. И, наконец, скрининг на наличие A-полиморфизма был проведён лишь в немногих исследовательских центрах, специализирующихся на изучении действия гена H-FABP (Англия и некоторые другие). Полиморфизм A-типа встречается крайне редко, эффекты различных аллелей изучены недостаточно [6, 7].

Была поставлена цель – охарактеризовать популяции свиней по аллельным вариантам гена H-FABP следующих мясных пород: ландрас, дюрок, крупная белая, эстонская беконная, белорусская чёрно-пёстрая.

Материал и методика исследования. Объектом исследования являются выборки животных свиноводческих комплексов РУСПП «Борисовский» Минской, «Северный» Витебской и КУСП «Заря» Гомельской областей.

ДНК из отщипа ушной раковины животных выделяли фенольно-хлороформовым методом [2]. ДНК генома животных исследуются по полиморфизму длин рестриктных фрагментов (ПДРФ) методом амплификации с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). ДНК-диагностика животных по D- и H-полиморфизму гена H-FABP прово-

дили методом амплификации с дальнейшим анализом полиморфизма длин рестриктных фрагментов [3, 4].

Для амплификации гена Н-FABP (D-система) использовали следующие праймеры:

FABP3: att cag cta ctc agc tgt ttc c fw

FABP4: aac aaa ctc tca gga atg gga g rw

Режим ПЦР: горячий старт (94°C) – 5 мин, затем 35 циклов амплификации: 94° С – 1 мин, 59° С – 1 мин, 72° С – 1 мин.

Рестрикция проводилась с использованием рестриктазы Hae III, буфер G при температуре инкубации 37° С.

Продукты рестрикции разделяли в 2%-ном агарозном геле. Фрагмент амплификации имеет 611 п. н. Если в результате рестрикции продукт амплификации не разрезался, в этом случае анализируемая особь квалифицируется как гомозигота FABP^{DD}. В случае разрезания продукта амплификации на фрагменты величиной 414 и 197 п. н. генотип животного классифицируется как FABP^{dd}. У гетерозиготного генотипа FABP^{Dd} после рестрикции присутствуют все три фрагмента: 611, 414 и 197 п. н. Результаты генотипирования по D-системе гена Н-FABP хорошо видны на электрофореграммах (рис. 1).

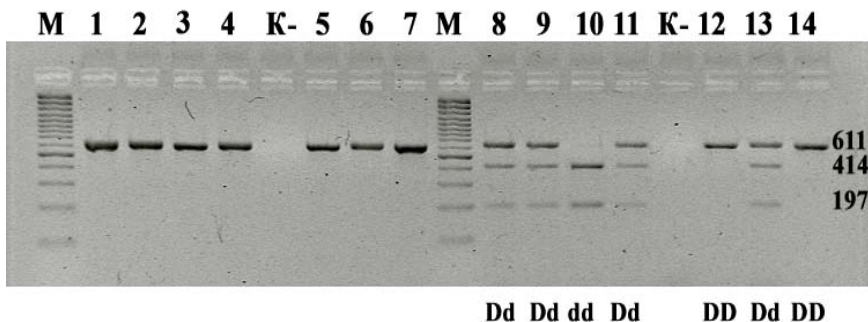


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ анализа D-полиморфизма гена Н-FABP.

Условные обозначения:

М – маркер 100bp DNA Ladder Plus;

к – отрицательный контроль;

дорожки 1-7 – амплифицированные фрагменты ДНК;

дорожки 8-14 – рестриктные фрагменты ДНК;

dd и Dd – предпочтительные генотипы с низким содержанием внутримышечного жира

Для выявления полиморфизма Н-системы гена Н-FABP использовали следующие праймеры:

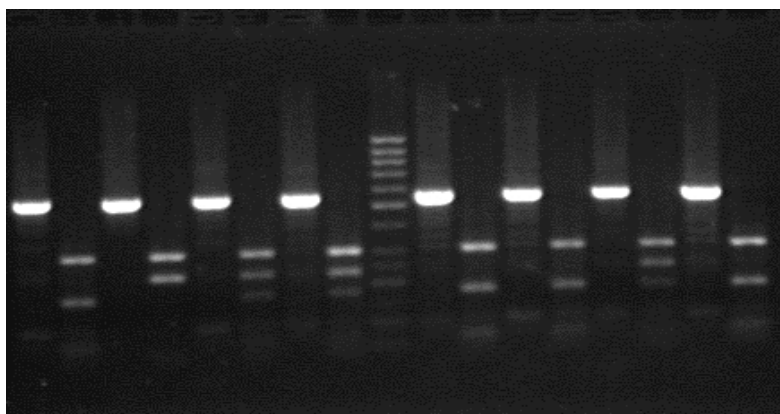
FABP1: 5' – AAG AGG ACC AAG ATG CCT ACG - 3'

FABP2: 5'- TGC TGT CCA STA GCT TCC AGG - 3'

Режим ПЦР: горячий старт (94°C) – 5 мин, денатурация (95°C) – 1 мин, отжиг (60°C) – 1 мин, элонгация (72°) – 1 мин (35 циклов).

Рестрикция проводилась с использованием рестриктазы HinfI при температуре инкубации 37°C.

Продукты рестрикции разделяли в 2%-ном агарозном геле. Фрагмент амплификации имеет 560 п. н. В результате рестрикции продукт амплификации разрезался на фрагменты 300, 201 и 59 пн, в этом случае анализированная особь квалифицируется как гомозигота FABP^{Hh}. В случае разрезания продукта амплификации на фрагменты величиной 300, 260 и 59 п. н. генотип животного классифицируется как FABP^{hh}. У гетерозиготного генотипа FABP^{Hh} после рестрикции присутствуют все четыре фрагмента: 300, 260, 201 и 59 п. н. Генотипирование особей по H-системе гена H-FABP представлено на электрофореграмме (рис. 2).



A HH A hh A Hh A Hh M A HH A HH A Hh A HH

Рис. 2 Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ анализа H-FABP (H –система)

Условные обозначения:

A - амплифицированные фрагменты ДНК;

HH, Hh, hh - Генотипы животных;

HH – предпочтительный генотип с низким содержанием внутримышечного жира.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Результаты исследований ДНК-диагностики животных по D- и H-полиморфизму гена H-FABP в КУСП «Заря» представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Частота генотипов и аллелей по гену, детерминирующему содержание внутримышечного жира (D-полиморфизм локуса H-FABP)

Порода	Количество проанализированных особей	Частота генотипов локуса H-FABP, %			Частота аллелей локуса H-FABP	
		DD	Dd	dd	D	d
Крупная белая	54	14,8	63,0	22,2	0,46	0,54
Белорусская мясная	39	20,5	33,3	46,1	0,38	0,62
Эстонская белоконная	35	28,6	34,3	37,1	0,45	0,55
Немецкий ландрас	28	25,0	42,9	32,1	0,46	0,54
Дюрок	44	12,5	54,2	33,3	0,39	0,61
Белорусская чёрно-пёстрая	12	25,0	50,0	25,0	0,5	0,5

Таблица 2

Частота генотипов и аллелей по локусу, детерминирующему содержание внутримышечного жира (H-полиморфизм локуса H-FABP)

Порода	Количество проанализированных особей	Частота генотипов локуса H-FABP, H-система, %			Частота аллелей локуса H-FABP H-система	
		HH	Hh	hh	H	h
Дюрок	29	58,6	34,5	6,9	0,76	0,24

По нашим данным, частота предпочтительных генотипов, детерминирующих содержание внутримышечного жира, составляет 58,6 % по H-системе и 34,5 % по D-системе гена H-FABP. Частота более ценных аллелей (H-аллель) составляет 0,76, а частота (d-аллель) – соответственно 0,55.

Следует отметить, что такие породы, как белорусская мясная и дюрок, имеют наибольшую частоту предпочтительного d-аллеля, дающего лучшие показатели содержания внутримышечного жира (0,62 и 0,61, соответственно).

Уменьшение толщины шпика у герозиготных животных по сравнению с особями, несущими гомозиготный генотип DD, составляло в зависимости от точки измерения от 5,9 до 13 %, а у свиней с генотипом dd – от 4,4 до 9,9 %. Тенденция пониженной жирности свиней с генотипом dd и Dd по сравнению с генотипом DD сохранялась и по показателю содержания внутреннего жира: уменьшение этого показателя составляло -10 и -13 %, соответственно.

Выявленная тенденция пониженной жирности туш свиней с генотипом Dd и dd по сравнению с генотипом DD сохранялась и при ис-

следовании содержания сала в туше после обвалки. Процентное содержание сала в тушах свиней с генотипами Dd и dd по сравнению с животными с генотипом DD была ниже соответственно на 8,9 и 11,5% при увеличении доли мяса соответственно на 7,0 и 10,9 %. По процентному содержанию костей существенных различий между группами выявлено не было.

Заключение. ДНК-диагностика в раннем возрасте племенных животных и ремонтного молодняка по гену H-FABP, контролирующему содержание внутримышечного жира, способствует увеличению мясной продуктивности свиней. Так как показана достоверная ассоциация аллельных вариантов ddHH и DdHH гена H-FABP с такими показателями, как толщина «мышечного глазка» и шпика, прирост живой массы и др., мы разработали схему рекомендуемого подбора животных по маркерному гену H-FABP на увеличение мясной продуктивности. В условиях промышленного производства свинины в республике это даёт возможность получить дополнительную продукцию в объёме 15 тыс. тонн. При этом ожидаемый экономический эффект составит около 20 млн. долларов. Данные, полученные в результате предлагаемого нами скрининга, станут основой для племенной работы на некоторых свиноводческих комплексах Беларуси, направленной на улучшение качества и увеличение разнообразия отечественной мясной продукции, т. к. благодаря маркер-ассоциированному отбору позволит целенаправленно вести скрещивание животных в промышленных масштабах, дающее либо постное диетическое мясо, либо деликатесное, т. н. «мраморное» мясо, с высоким содержанием жира. Побочным результатом работы является создание банка ДНК свиней различных пород, что позволит проводить масштабные популяционно- и эволюционно-генетические исследования, направленные на интенсификацию племенного процесса в отечественном животноводстве и повышение его эффективности до уровня развитых европейских стран. Использование ДНК-диагностики в селекции свиней позволит осуществлять направленное разведение предпочтительных генотипов, что ускорит селекцию свиней на воспроизводительные, откормочные и мясные качества.

Литература

1. Зиновьева, Н. А. Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь // Материалы международной научной конференции. – Дубровицы, 2002. – С. 44.
2. Калашникова, Л. А. ДНК-технология оценки сельскохозяйственных животных / Л. А. Калашникова, И. М. Дунин, В. И. Глазко. – Лесные поляны : ВНИИплем, 1999. – 148 с.
3. Максимов, Г. В. // Сельскохозяйственная биология. – 1995. – № 2. – С. 13-33.
4. Лобан, Н. А. Использование методов ДНК-технологий в селекции свиней / Н. А. Лобан // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы Междунар. науч. конф. – Дубровицы, 2002. – С. 148-150.

5. Арсиенко, Р. Ю., Гладырь, Е. А. // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы Междунар. науч. конф. – Дубровицы, 2002. – С. 94-96.
6. A study of associations of the H-FABP genotypes with fat and meat production of pigs / T. Urban [et al.] // J. Appl. Genet. – 2002. – Vol. 43(4). – P. 505-509.
7. Fatty acid-Binding proteins: their role in intramuscular fat deposition in pigs 18 / F. Gerbtms [et al.] // Animal genetics. – 2004. – Vol. 11. – P. 1124-1126.
8. Relationship Between Molecular Marker of Western Main Pig H-FABP Gene and IMF Content / G. S. [et al.] // Yi Chuan. – 2005. – Vol. 27(3). – P. 351-356.
9. Шейко, И. П. Разработка методов молекулярной генной диагностики и их использование в свиноводстве Беларуси / И. П. Шейко, Н. А. Лобан, О. Я. Василюк // Вестн. НАН Беларуси. Сер. аграрных наук. – 2005. – № 1. – С. 62-65.

УДК 636.476.082

Н. В. ПОДСКРЁБКИН

ВЛИЯНИЕ ХРЯКОВ ПОРОДЫ ЙОРКШИР НА ПРОДУКТИВНОСТЬ СВИНЕЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

Введение. За последние годы в республике проведена большая селекционная работа по совершенствованию мясных качеств свиней разводимых в республике пород. Для улучшения мясной продуктивности свиней крупной белой породы использовали прилитие крови свиней породы йоркшир зарубежной селекции (шведской, финской, литовской) [1, 2].

Известно, что вся селекционная работа в свиноводстве республики базируется на существующих чистопородных стадах, в которых наибольшее распространение (свыше 80%) имеет крупная белая порода. Широкое её использование в системе гибридизации, скрещивании и чистопородном разведении в племенных и товарных хозяйствах является основополагающим в развитии отрасли свиноводства республики и определяет значимость селекционно-племенной работы с этой породой. Однако постоянно возрастающие требования к интенсификации производства свинины ставят перед селекционерами задачу не только по увеличению продуктивности животных, но и по улучшению качества продукции [3, 4].

Многолетний опыт селекционной работы в свиноводстве показал, что повышение генетического потенциала продуктивности свиней крупной белой породы путём традиционных методов составляет менее 1 % в год [5]. Поэтому с целью её дальнейшего совершенствования по