

С. Пелехатый [и др.] ; Науч.-исслед. ин-т сельского хозяйства Нечерноземной зоны УССР. – Житомир, 1982. – 153 с.

3. Республиканская комплексная программа по племенному делу в животноводстве на 2005-2010 годы : одобрена постановлением коллегии М-ва сельского хозяйства и продовольствия Респ. Беларусь 23.06.2044 г. – Мн., 2005. – 66 с.

4. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Мн., 1967. – 326 с.

5. Плохинский, Н. А. Алгоритмы биометрии / Н. А. Плохинский. – М., 1967. – 80 с.

(поступила 3.03.2008 г.)

УДК 636.4.082.12.

О.А. ЕПИШКО¹, Л.А. КАЛАШНИКОВА², Т.И. ЕПИШКО¹,
Н.В. ЖУРИНА¹

ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ ESR, PRLR, FSH β И RYR1 НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ ПРИЗНАКИ СВИНОМАТОК И ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ХРЯКОВ- ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПОРОДЫ ДЮРОК

¹РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

²ВНИИплем (Россия)

Введение. Интенсивная селекция на повышение мясности и одно-временное снижение содержания жира в туше привела к значительно-му увеличению количества предрасположенных и чувствительных к стрессу животных и, как следствие, снижению продуктивности и каче-ства мяса. Кроме того, проблемой оказалось не только увеличение по-казателей репродуктивных признаков, но и поддержание их на достиг-нутом уровне.

Порода дюрок является супермясной и широко используется в си-стеме гибридизации Республики Беларусь для получения трех- и четы-рехпородных гибридов. Однако матки данной породы характеризуют-ся невысоким многоплодием, что снижает эффективность их исполь-зования [1].

Поэтому применение в селекции ДНК-маркеров, детерминирую-щих проявление наследственных заболеваний и репродуктивных при-знаков, позволит осуществлять селекцию непосредственно на уровне ДНК, то есть по генотипу, не учитывая влияние модификационной из-менчивости, проводить оценку животных независимо от пола в раннем возрасте, прогнозировать и моделировать селекционный процесс. Со-гласно результатам исследований, полученных Н.В. Журиной [2],

применение генетических маркеров в селекции свиней белорусской мясной породы позволит увеличить многоплодие маток до 18 % за одно поколение.

В зарубежной селекционной практике используют ряд генов-маркеров, детерминирующих репродуктивные признаки: ESR – ген эстрогенового рецептора, влияющий на развитие вторичных половых признаков по женскому типу, PRLR – ген пролактинового рецептора определяющий биологическую способность свиней к многоплодию и выкармливанию поросят, FSH β – ген β -субъединицы фолликулостимулирующего гормона, регулирующий фолликулогенез и RYR1 – ген устойчивости к стрессу, оказывающий косвенное действие на репродуктивные качества у животных-носителей мутации злокачественной гипертермии и чувствительных к стрессу.

В связи с этим, изучение генетической структуры и связи генов ESR, PRLR, FSH β и RYR1 с репродуктивными признаками свиноматок и хряков-производителей породы дюрок с целью выявления возможности использования их в качестве маркеров для повышения воспроизводительной функции животных является актуальным, что и послужило целью наших исследований.

Материалы и методика исследований. Исследования проведены в РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». В качестве объекта исследований были использованы свиноматки и хряки-производители породы дюрок, разводимые в РСУП «СПЦ «Заднепровский» Оршанского района Витебской области.

В процессе работы методом ПЦР-ПДРФ анализа, исследован полиморфизм генов ESR, PRLR, FSH β и RYR1 у 70 свиноматок и 33 хряков-производителей породы дюрок.

ДНК экстрагировали из проб ткани животного перхлоратным методом. Оценку концентрации, степени очистки, нативности и подвижности ДНК проводили электрофоретическим методом на агарозном геле. Для амплификации участков генов ESR, PRLR, FSH β и RYR1 подобраны праймеры и их концентрация. В качестве основы для проведения ПЦР-ПДРФ анализа использованы методики M.F. Rothschild et al. [3] и Т.Н. Short et al. [4], Г. Брем и Б. Бренинг [5], обеспечивающие оптимальную амплификацию участков генов ESR, PRLR, FSH β и RYR1.

Амплификацию генов ESR, PRLR, FSH β и RYR1 проводили с использованием реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 1хTaq-буфер, 2 мМ дНТФ (4 х 0,5мМ каждого), 10 пМ каждого праймера, 1,5 ед. акт. Taq-полимеразы, 100-200 нг геномной ДНК.

Для рестрикции амплифицированных участков генов ESR, PRLR, FSH β и RYR1 использовали эндонуклеазы: PvuII, AluI, BsuRI и Hin6I соответственно. Реакцию проводили при температуре 37°C в течение

3-4 часов в реакционной смеси, содержащей 15 ед. акт. рестриктазы, 15 мкл амплификата. Продукты рестрикции генов ESR, PRLR, FSH β и RYR1 разделяли электрофоретически в 4%-, 3%-, 4%- и 4%-ном агарозном геле соответственно. Растворы для электрофореза готовили по Маниатису [6]. Для анализа распределения рестрикционных фрагментов ДНК в агарозном геле после электрофореза использовали видеосистему VITran. Частоты генотипов и аллелей генов ESR, PRLR, FSH β и RYR1, а также генетическое равновесие в популяции маток породы дюрок рассчитывали по Е.К. Меркурьевой [7].

Результаты эксперимента и их обсуждение. Анализ генетической структуры свиноматок породы дюрок выявил мономорфность по генам ESR, FSH β и RYR1 и только по гену PRLR установлен полиморфизм. Частоты встречаемости генотипов и аллелей по гену PRLR в популяции маток распределились следующим образом: PRLR^{AA} – 14,3 %, PRLR^{AB} – 48,7 %, PRLR^{BB} – 37 %, PRLR^A – 0,385, PRLR^B – 0,615. Несмотря на преобладание животных с гетерозиготным генотипом генетическое равновесие в популяции свиноматок не было нарушено (таблица 1).

Таблица 1 – Генетическая структура популяций свиноматок породы дюрок, разводимых на СГЦ «Заднепровский», по генам ESR, PRLR, FSHB и RYR1

Ген	Количество животных	Распределение	Частота встречаемости генотипов, %	Частота встречаемости аллелей	χ^2
ESR	70	Ф	AA – 100 AB – 0 BB – 0	0	–
PRLR	70	Ф	AA – 14,3 AB – 48,7 BB – 37,0	A – 0,385 B – 0,615	0,07
		О	AA – 14,8 AB – 47,4 BB – 37,8		
FSHB	70	Ф	AA – 0 AB – 0 BB – 100	0	–
RYR1	70	О	NN – 100 Nn – 0 nn – 0	0	–

Возможным объяснением мономорфности популяции маток по генам ESR и FSH β может служить то, что специфичность и важность выполняемой функции данных генов в детерминации репродуктивных

признаков у животных породы дюрок, являющейся супермясной. По мнению Гарт В.В. [2], правильнее рассматривать полиморфизм как относительно нейтральную изменчивость, связанную с второстепенными адаптивными свойствами вида, а генетический мономорфизм – как маркеры таких кардинальных функций, нормальная изменчивость которых биологически недопустима. Мутации в этой части генома приводят к патологии и отсекаются отбором на разных стадиях онтогенеза.

Однако мономорфность популяции по гену RYR1 является результатом целенаправленной селекционной работы на создание супермясных животных, устойчивых к злокачественной гипертермии.

Популяция хряков-производителей так же была мономорфна по генам ESR, FSHB и RYR1 (таблица 2), и только по гену PRLR установлен полиморфизм, где частоты встречаемости генотипов и аллелей распределились следующим образом: $PRLR^{AA}$ – 15,2 %, $PRLR^{AB}$ – 27,2 %, $PRLR^{BB}$ – 57,6 %, $PRLR^A$ – 0,0288, $PRLR^B$ – 0,0712. При этом в популяции выявлено нарушение генетического равновесия ($P < 0,01$) в сторону преобладания гомозиготных $PRLR^{BB}$ особей, что, возможно, связано с проведением преимущественной селекции данной породы на увеличение мясной продуктивности.

Таблица 2 – Генетическая структура популяции хряков-производителей породы дюрок, разводимых на ГК «Заднепровский», по генам ESR, PRLR, FSHB и RYR1

Ген	Количество животных	Распределение	Частота встречаемости генотипов, %	Частота встречаемости аллелей	χ^2
ESR	33	Ф	AA – 0 AB – 0 BB – 100	0	–
PRLR	33	Ф	AA – 15,2 AB – 27,2 BB – 57,6	A – 0,288 B – 0,712	7,3**
		О	AA – 8,2 AB – 41,2 BB – 50,6		
FSHB	33	Ф	AA – 0 AB – 0 BB – 100	0	–
RYR1	33	ф	NN – 100 Nn – 0 nn – 0	0	–

Разница между фактическими (Ф) и ожидаемыми (О) распределениями генотипов достоверна при $**P < 0,01$

Особого внимания требует изучение анализа генетического равновесия, нарушение которого у хряков-производителей не вызывает особого опасения, хотя дает информацию для анализа, поскольку это результат интенсивного отбора. Это же явление в основном стаде свиноматок служит серьезным предупреждением о дисбалансе генетического статуса популяции.

При изучении ассоциации полиморфизма гена PRLR с репродуктивными признаками свиноматок породы дюрок выявлена закономерность положительного влияния аллеля PRLR^A и генотипа PRLR^{AA} на ряд показателей (таблица 3).

Таблица 3 – Продуктивность популяции свиноматок породы дюрок, разводимых в РСУП «СГЦ «Заднепровский», по второму и последующим опоросам в зависимости от генотипа по гену PRLR

Показатели	генотип PRLR		
	AA	AB	BB
Количество голов	10	30	27
Количество опоросов	3,17±0,87	3,54±0,62	2,42±0,45
Супоросный период, дней	114,93±0,41	114,15±0,24	115,08±0,5
Родилось поросят всего, гол.	11,14±0,37*	11,38±0,4	10,17±0,3
В том числе живых, гол.	10,72±0,37*	10,49±0,4	9,45±0,5
Масса гнезда при рождении, кг	17,34±0,62	16,29±0,7	16,57±0,85
Количество поросят в 21 день, гол.	8,48±0,22	8,86±0,14	9±0,55
Молочность, кг	48,11±2,05	47,77±1,4	51,56±1,06
Количество поросят при отъеме, гол.	8,48±0,22	8,78±0,15	8,83±0,46
Масса гнезда при отъеме в 35 дней	73,02±4,21	77,96±4,17	80,37±3,7
Процент мертворожденных поросят, %	3,56±1,53	7,79±1,96	7,45±3,48
Процент аварийных опоросов, %	8,93±5,67***	13,22±4,42	61,67±10,61

Разница между показателями генотипов AA и BB достоверна при *P<0,05, *** P<0,001

Установлено, что свиноматки с генотипом PRLR^{AA} превосходили животных с генотипом PRLR^{BB} по количеству родившихся поросят, на 1,0 поросенка, или на 9,5 % (P<0,05), в том числе живых – на 1,2 поросенка, или на 13,4 % (P<0,05), установлено снижение процента ава-

рийных опоросов на 53 % ($P<0,001$).

Выявлена тенденция увеличения массы гнезда при рождении на 0,7 кг, или 4,6 %, и снижение процента мертворожденных поросят на 4 %.

Причиной более низкой молочности и массы гнезда при отъеме у маток генотипа PRLR^{AA} в сравнении со свиноматками генотипа PRLR^{BB} является технологическая подсадка поросят. Однако достоверных различий между данными генотипическими группами не установлено.

В результате изучения влияния гена на воспроизводительную функцию хряков-производителей породы дюрок выявлена закономерность положительного влияния аллеля PRLR^A на ряд данных признаков (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели спермопродукции популяции хряков-производителей породы дюрок разводимых в РСУП «СГЦ «Заднепровский», в зависимости от генотипа по гену PRLR

Показатели	Генотипы		
	AA (n=5)	AB (n=9)	BB (n=19)
Количество эякулятов, %	328	653	1332
Объем эякулята, мл	163,8±13,6*	1363,66±10,73	128,9±6,7
Концентрация спермиев, млн/мл	360,8±11,11	354,33±13,51	344,09±7,4
Переживаемость, час	184,5±9,5*	157±6,81	154,29±10,67

* - Разница между показателями генотипов AA и BB достоверна при $P<0,05$,

Выявлено, что хряки генотипа PRLR^{AA} превосходили хряков генотипа PRLR^{BB} по объему эякулята на 35 мл, или на 27 % ($P<0,05$), и переживаемости спермиев на 20,2 часа, или на 19,5 % ($P<0,05$). Также наблюдалась тенденция увеличения концентрации спермиев на 16,7 млн/мл, или на 4,8 %.

Заключение. В результате анализа генетической структуры популяции породы дюрок, разводимых на СГЦ «Заднепровский», было выявлено, что свиноматки и хряки-производители были мономорфны по генам ESR, FSHB и RYR1, и только по гену PRLR установлен полиморфизм. При этом в популяции хряков-производителей выявлено нарушение генетического равновесия ($P<0,01$) в сторону преобладания гомозиготных PRLR^{BB} особей.

При изучении взаимосвязи гена PRLR с репродуктивными признаками свиноматок установлено достоверное влияние генотипа PRLR^{AA} на количество родившихся поросят – на 9,5 % ($P<0,05$), в том числе

живых – на 13,4 % ($P < 0,05$). Установлено снижение процента мертворожденных поросят на 4 %.

В результате изучения влияния гена на воспроизводительную функцию хряков-производителей выявлено положительное влияние аллеля PRLR^A на объем эякулята – на 27 % ($P < 0,05$) и переживаемость спермиев – на 19,5% ($P < 0,05$), увеличение концентрации спермиев на 4,8 %.

Литература

1. Шейко, И. П. Генетические методы интенсификации селекционного процесса в свиноводстве : моногр. / И. П. Шейко, Т. И. Епишко ; Ин-т животноводства Нац. акад. наук Беларуси. – Жодино, 2006. – 197 с.
2. Журина, Н. В. Применение гена эстрогенового рецептора в маркерной селекции свиней на повышение репродуктивных признаков : автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук / Журина Н.В. – Жодино – 2007. – 21 с.
3. Rothschild, M. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs / M. Rothschild // J. Genetics. – 1996. – Vol. 93. – P. 201-205.
4. Short, T. H. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines / T. H. Short // J. Anim. Sc. – 1997. – Vol. 75, N 12. – P. 3138-3142.
5. Брэм, Г. Использование в селекции свиней молекулярной генной диагностики злокачественного гипертермического синдрома (MHS) / Г. Брэм, Б. Бренинг // Генетика. – 1993. – Т. 29, № 6. – С. 1009-1013.
6. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук. – М. : Мир, 1984. – 480 с
7. Меркурьева, Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е. К. Меркурьева. – М. : Колос, 1977. – 280 с.

(поступила 4.03.2008 г.)

УДК 636.4:575.174.015.3

Т.И. ЕПИШКО, М.А. КОВАЛЬЧУК, Н.В. ЖУРИНА,
О.А. ЕПИШКО

ПОЛИГЕННЫЙ ХАРАКТЕР ДЕТЕРМИНАЦИИ ОТКОРМОЧНЫХ КАЧЕСТВ СВИНЕЙ БЕЛОРУССКОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ

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

Введение. Интенсивная селекция на создание мясных генотипов в свиноводстве и использование пород ландрас и пьетрен привели, наряду с положительным эффектом увеличения содержания мяса в туше, к отрицательным последствиям: снижению качества мяса и появлению