

УДК 636.4.082.2

О.А. ЕПИШКО

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАРКЕРНЫХ ГЕНОВ В СЕЛЕКЦИИ СВИНЕЙ БЕЛОРУССКОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ КАЧЕСТВ

УО «Полесский государственный университет»

Введение. Несмотря на значительные успехи в области популяционной генетики, оценка пород, популяций и отдельных животных не может быть полной даже в отношении формирования продуктивных качеств у потомков, т. к. основана на оценке фенотипического проявления признаков и не охватывает ряд свойств генотипа, наиболее важным из которых является способность к репродукции, проявлению продуктивности, передаче по наследству «генетического груза» и летальных генов, хотя и позволяет отбирать и использовать для целей генетического прогресса, как правило, лучшие родительские формы. По данным Овчинникова А.В., для того, чтобы увеличить многоплодие на 0,8 головы, необходимо в течение 16 лет вести отбор на многоплодие при 50%-ной браковке маток [5].

Одним из подходов повышения эффективности селекционной работы является применение ДНК-маркеров, позволяющих вести отбор и подбор родительских форм на генном уровне, то есть проводить селекцию по генотипу непосредственно на уровне ДНК, не учитывая изменчивость хозяйственно-полезных признаков, обусловленную внешней средой и технологическими факторами, выявлять генетический потенциал животных в раннем возрасте, независимо от пола и своевременно оценивать признаки, которые фенотипически проявляются поздно, или только у животных одного пола, что в итоге даст возможность значительно повысить генетический потенциал животных, осуществить направленное разведение предпочтительных генотипов, ускорить процесс селекции свиней на репродуктивные, откормочные и мясные качества.

Согласно данным научной литературы, такими генами являются ген пролактинового рецептора (PRLR), связанный с биологической способностью свиней к многоплодию и выкармливанию поросят и со-

зреванию ооцитов, и ген бета-субъединицы фолликулостимулирующего гормона (FSH β), регулирующий фолликулогенез [1, 3, 6, 7].

Однако данные научной литературы достаточно противоречивы. По сообщению исследователей в одном случае позитивное влияние на воспроизводительную функцию животных оказывают одни генотипы, в другом альтернативные.

В связи с этим, возникает необходимость в проведении исследований, направленных на разработку методов применения генов-маркеров репродуктивных признаков в селекции свиней белорусской мясной породы, как основы совершенствования существующих и создания новых генотипов, что позволит решить важную народнохозяйственную проблему – повышение эффективности ведения отрасли свиноводства.

Материалы и методы исследований. Исследования были проведены в течение 2005-2008 гг. в РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». В качестве объекта исследований были использованы свиноматки и хряки-производители белорусской мясной породы, разводимые в РСУП «СГЦ «Заднепровский» Оршанского района Витебской области.

В процессе работы методом ПЦР-ПДРФ анализа исследован полиморфизм генов PRLR у 426 и FSH β у 421 матки и 50 хряков-производителей белорусской мясной породы каждого гена. Для решения поставленных задач были созданы опытные группы свиноматок белорусской мясной породы, по 20 голов в каждой генотипической группе, по генам PRLR и FSH β .

Однако результаты, полученные в опытных группах, являются подтверждением теоретической модели и наших наблюдений и не отражают те процессы, которые происходят в популяции в целом.

В связи с этим, нами исследован полиморфизм популяции свиноматок белорусской мясной породы и установлена ассоциация полиморфных вариантов генов с продуктивными качествами.

ДНК экстрагировали из проб ткани уха животного перхлоратным методом [2]. Концентрацию, степень очистки, нативность оценивали на спектрофотометре Gene Quant 1300. ПЦР проводили в амплификаторе Gene Amp \otimes PCR System 2700 фирмы Applied Biosystems.

Из предлагаемых генетическим банком и зарубежными исследователями праймеров нами были подобраны олигонуклеотидные последовательности, обеспечивающие стабильную, специфичную амплификацию фрагментов генов PRLR и FSH β .

PRLR1:5' - CGT GGC TCC GTT TGA AGA ACC - 3'

PRLR2:5' - CTG AAA GGA GTG CAT AAA GCC - 3'

FSH β F: - AGT TCT GAA ATG ATT TTT CGG G - 3'

FSH β R: - TTT GCC ATT GAC TGT CTT AAA GG - 3'

Разработаны программы проведения ПЦР, основанные на методи-

ках Short et al. [9] и Rohrer et al. [8], с некоторыми изменениями температурных и временных профилей реакции, что обеспечило оптимальную амплификацию участков генов PRLR и FSH β , несущих точковую мутацию.

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

Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 2%-ном агарозном геле. В качестве маркера использовали ДНК плазмиды pBR 322, расщеплённую рестриктазами. Длина фрагмента гена PRLR составила 163 п.о., FSH β – 713 п.о.

Оптимизированы параметры проведения рестрикции. Для рестрикции амплифицированных участков генов PRLR и FSH β использовали эндонуклеазы: AluI и BsuRI, соответственно. Реакцию проводили при температуре 37°C в течение 3-4 часов, для FSH β не менее 12 часов в реакционной смеси, содержащей 15 ед. акт., рестриктазы, 15 мкл амплификата. Продукты рестрикции генов PRLR и FSH β разделяли электрофоретически в 3%- и 4%-ном агарозном геле, соответственно. Растворы для электрофореза готовили по Маниатису [4]. Для анализа распределения рестрикционных фрагментов ДНК в агарозном геле после электрофореза использовали видеосистему VITran.

Результаты эксперимента и их обсуждение. В результате проведённого ДНК-типирования свиней изучаемой породы выявлены отличия частот встречаемости генотипов PRLR^{AA} и FSH β ^{BB} в зависимости от породной, линейной принадлежности и половозрастной группы животных. В популяции свиноматок и хряков-производителей белорусской мясной породы частота встречаемости генотипа PRLR^{AA} варьировала от 12 до 66 % и от 40 до 83 %, FSH β ^{BB} – от 78 до 93 % и от 50 до 100 %, соответственно.

В популяции хряков установлено нарушение генетического равновесия по гену FSH β ($P < 0,001$). Объяснением служит то, что данный ген контролирует сперматогенез и детерминирует качественные показатели спермопродукции, по которым ведётся отбор производителей.

Большое значение в процессе воспроизводства играет ген PRLR, детерминирующий биологическую способность маток к многоплодию и выкармливанию поросят, а так же стимулирующий созревание ооцитов, формирование зрелой яйцеклетки. При изучении взаимосвязи полиморфных вариантов гена PRLR с репродуктивными признаками свиноматок опытной группы нами установлена закономерность положительного влияния генотипа PRLR^{AA} на ряд признаков (таблица 1).

Данные таблицы свидетельствуют о том, что свиноматки генотипа PRLR^{AA} характеризовались большим количеством рождённых поросят

– до 18 % ($P < 0,05$), в том числе живых – до 14 % ($P < 0,001$) в сравнении с животными генотипа PRLR^{BB}. Установлена тенденция повышения показателей спермопродукции, плодотворного осеменения маток и их многоплодия в среднем до 12 % у производителей генотипа PRLR^{AA}.

Таблица 1 – Продуктивность популяции свиноматок белорусской мясной породы в зависимости от генотипа по гену PRLR

Показатели	генотип по гену PRLR (n=426)		
	AA	AB	BB
Количество голов	92	221	113
Родилось поросят всего, гол.	12,6±0,82*	11,7±0,27 ^{^^}	10,7±0,27
В том числе живых, гол.	12,0±0,23*** ^{ooo}	11,0±0,18 [^]	10,5±0,2
Масса гнезда при рождении, кг	17,1±0,41	16,8±0,28	16,5±0,42
Количество поросят в 21 день, гол.	9,8±0,25	9,5±0,14	9,4±0,22
Молочность, кг	55,5±1,59	55,8±0,84	53,4±1,36
Количество поросят при отъёме, гол.	9,5±0,14	9,5±0,14	9,2±0,22
Масса гнезда при отъёме в 35 дней, кг	99,2±2,3	94,1±2,34	94,3±2,8
Процент аварийных опоросов, %	10,1±2,91	12,1±1,85	17,5±2,72

Примечание: разница между показателями генотипов PRLR^{AA} и PRLR^{BB} достоверна при * $P < 0,05$; *** $P < 0,001$; разница между показателями генотипов PRLR^{AA} и PRLR^{AB} достоверна при ^{oo} $P < 0,01$; разница между показателями генотипов PRLR^{AB} и PRLR^{BB} достоверна при [^] $P < 0,05$; ^{^^} $P < 0,01$

Таким образом, выявленная закономерность и тенденция увеличения репродукции животных генотипа PRLR^{AA} позволяют рекомендовать использование гена PRLR в селекции свиней белорусской мясной породы для повышения показателей данных признаков.

Учёными разных стран высказано предположение, что ген FSH β , детерминирующий развитие фолликулов у маток, а у самцов – сперматогенез, также может служить маркером репродуктивной функции свиноматок и воспроизводительной хряков-производителей.

В ходе эксперимента нами было установлено, что свиноматки генотипа FSH β ^{BB} характеризовались более высоким многоплодием, как в опытной группе, так и в зависимости от их линейной принадлежности (от 4,1 до 13 %).

Было установлено, что свиноматки генотипа FSH β ^{BB} характеризовались более высоким многоплодием, как в целом по популяции, так и в зависимости от линейной принадлежности (таблица 2).

Таблица 2 – Продуктивность популяции свиноматок белорусской мясной породы в зависимости от генотипа по гену FSH β

Показатели	генотип FSH β (n=421)	
	AB	BB
Количество голов	36	385
Родилось поросят всего, гол.	12,2 \pm 0,54	12,5 \pm 0,4
В том числе живых, гол.	11,1 \pm 0,17	11,5 \pm 0,42
Масса гнезда при рождении, кг	15,9 \pm 0,3	16,3 \pm 0,58
Количество поросят в 21 день, гол.	9,7 \pm 0,15	9,8 \pm 0,16
Молочность, кг	53,4 \pm 1,15	55,5 \pm 1,21
Количество поросят при отъёме, гол.	9,4 \pm 0,14	9,8 \pm 0,16*
Масса гнезда при отъёме в 35 дней, кг	93,6 \pm 5,2	101,3 \pm 6,5
Процент аварийных опоросов, %	12,3 \pm 4,64	9,9 \pm 4,04

Примечание: разница между показателями генотипов FSH β ^{BB} и FSH β ^{AB} достоверна при *P<0,05

Установлено, что свиноматки с генотипом FSH β ^{BB} превосходили особей с генотипом FSH β ^{AB} по количеству рождённых поросят на 0,3 поросёнка, или на 2,5 %, в том числе живых – на 0,4 поросёнка, или на 3,6 % и при отъёме – на 0,4 поросёнка, или на 4,5 % (P<0,05), а так же по массе гнезда: при рождении – на 0,4 кг, или на 2,5 %, в 21 день – на 2,1 кг, или на 4 %, при отъёме – на 7,7 кг, или на 8 %, и характеризовались более низким процентом аварийных опоросов (на 2,4 %).

Наши исследования выявили закономерность положительного влияния генотипа FSH β ^{BB}, обеспечившего повышение процента плодотворного осеменения маток на 2,3 % (P<0,05) и их многоплодия на 1,1 поросёнка (P<0,01), и у производителей в сравнении с матками, покрытыми хряками генотипа FSH β ^{AB}.

В ходе эксперимента было установлено, что в отдельности каждый из изучаемых нами генов PRLR и FSH β оказывает определённое положительное влияние на показатели репродуктивных признаков свиноматок и воспроизводительных хряков-производителей белорусской мясной породы.

Таким образом, выявленное положительное влияние предпочтительных генотипов на репродуктивную функцию свиноматок и воспроизводительную хряков-производителей позволяет нам рекомендовать данные гены в качестве маркеров для селекции на повышение многоплодия свиней белорусской мясной породы.

Заключение. В результате проведённых исследований на основе анализа ДНК методом ПЦР-ПДРФ анализа выявленных закономерностей и тенденций разработаны методы применения генов PRLR и

FSH β в селекции свиней белорусской мясной породы в качестве маркеров, которые рекомендуем применять в племенной работе для повышения репродуктивных качеств.

Литература

1. Гладырь, Е. А. Использование маркерных генов в свиноводстве / Е. А. Гладырь, Р. Ю. Арсенико, В. П. Мичурин // ДНК-технологии в клеточной инженерии и маркирование признаков сельскохозяйственных животных. – Дубровицы, 2001. – С. 64-67.
2. Зиновьева, Н. А. Методы исследований в биотехнологии сельскохозяйственных животных : шк.-практикум. Вып. 3 / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь ; под ред. Н. А. Зиновьевой. – Дубровицы : ВИЖ, 2004. – 60 с.
3. Кунаева, Е. К. Использование гена фолликулостимулирующего гормона бета-субъединицы (FSHB) как генетического маркера молочности в свиноводстве / Е. К. Кунаева, Е. А. Гладырь, Н. А. Зиновьева // Сб. науч. тр. межрегиональной науч.-практ. конф. молодых учёных, аспирантов и студентов. – Чибоксары : ООО «Полиграф», 2006. – С. 204-205
4. Маниатис, С. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Дж. Фриг. – М. : Мир, 1984. – 480 с.
5. Овчинников, А. В. Научные и практические аспекты подбора в племенном и промышленном свиноводстве : дисс... д-ра с.-х. наук / Овчинников А.В. – М., 2006. – 131 с.
6. Effects of ESR1, FSHB and RBP4 genes on litter size in a Large White and a Landrace Herd / X. Wang [et al.] // Arch. Tierz. Dummerstorf. – 2006. – Vol. 49, № 1. – P. 64-70.
7. Follicle Selection in Cattle: Role of Luteinizing Hormone Follicle Selection in Cattle / O. J. Ginther [et al.] // Biol. Reprod. – 2001. – Vol. 64. – P. 197-205
8. Rohrer, G. A. Mapping the subunit of follicle stimulating hormone / G. A. Rohrer, L. T. Alexander, C. W. Beattie // Mammalian Genome. – 2004. – Vol. 5. – P. 315-317.
9. Short, T. H. Effect of estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines / T. H. Short // J. Anim. Sc. – 1997. – Vol. 75, № 12. – P. 3138-3142.

(поступила 27.02.2009 г.)

УДК 636.4.082.2

Т.И. ЕПИШКО¹, Н.В. ЖУРИНА², М.А. КОВАЛЬЧУК²

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОВ RYR1 И H-FABP ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ МЯСНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ СВИНЕЙ

¹УО «Полесский государственный университет»

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

Введение. Интенсивная селекция на создание мясных генотипов в свиноводстве привела, наряду с положительным эффектом увеличения содержания мяса в туше, к отрицательным последствиям: снижению качества мяса и появлению пороков PSE и DFD. Считается, что одной