

И.Ф. ГРИДЮШКО¹, Н.В. ЖУРИНА¹, М.А. КОВАЛЬЧУК¹,
Е.С. ГРИДЮШКО¹, Т.К. КУРБАН¹, Л.И. КАРПЕНКО²,
А.Н. РУСМАНОВА³

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ ПРИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ ЛИНИЙ И СЕМЕЙСТВ СВИНЕЙ БЕЛОРУССКОЙ ЧЁРНО-ПЁСТРОЙ ПОРОДЫ

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

²КСПУП «Селекционно-гибридный центр «Заречье»
Гомельской области

³КСУП «Племенной завод Ленино» Могилёвской области

Введение. В ближайшие пять лет возрастёт значимость использования в селекционной работе ДНК-тестирования племенных животных по широкому спектру генов-маркеров. Определение продуктивного потенциала и племенной ценности основных хряков и свиноматок методами ДНК-технологии должно стать объективным условием повышения эффективности селекции по совершенствованию разводимых в республике пород.

Селекционно-племенная работа с белорусской чёрно-пёстрой породой свиней направлена на совершенствование её продуктивных качеств с сохранением породных особенностей – высокой адаптационной способности к технологиям, применяемым в республике, отличных вкусовых качеств и технологических свойств свинины. С освоением методов ДНК-диагностики свиней в селекционно-племенной работе с породой начинается новый этап, направленный на изучение генетического потенциала и структуры породы с целью ускорения процесса совершенствования её хозяйственно-полезных признаков и рационального использования в племенном и промышленном свиноводстве.

Использование ДНК-тестирования по генам RYR1, как маркеру стрессовой чувствительности, D и H-FABP, как маркерам мясной продуктивности, и ESR, как маркеру плодовитости свиней, позволяет исключить нежелательные генотипы и ускорить целенаправленную селекционную работу с отдельными линиями и семействами в породе по совершенствованию мясных и репродуктивных признаков [1-3].

Материал и методика исследований. Исследования проведены в РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», КСПУП «Селекционно-гибридный центр «Заречье» Рогачёвского района Гомельской области и КСУП «Пле-

менной завод «Ленино» Горецкого района Могилёвской области. Объектом исследований были хряки и свиноматки белорусской чёрно-пёстрой породы общей численностью 155 голов.

Для изучения полиморфизма генов RYR1, H-FABP и ESR у 40 исследуемых животных были взяты биопробы ткани, из которых выделена ДНК перхлоратным методом [3].

Генотипирование свиней проводили методом ПЦР-ПДРФ, при этом использовали олигонуклеотидные праймеры следующих последовательностей:

RYR F: 5'- GTGCTGGATGTCCCTGTGTTCCCT-3',
RYR R: 5'- CTGGTGACATAGTTGATGAGGTTTG-3';
H-FABP (H) F: 5' -AAGAGGACCAAG ATGCCTACG- 3',
H-FABP (H) R: 5'- TGCTGTCCACTAGCTTCCAGG -3';
H-FABP(D) F: 5' -ATT CAG CTA CTC AGC TGT TTC C- 3',
H-FABP(D) R: 5'- AAC AAA CTC TCA GGA ATG GGA G -3';
ESR F: 5'- CCTGTTTTTACAGTGACTTTTTACAGAG-3',
ESR R: 5'- CACTTCGAGGGTCAGTCCAATTAG-3 [3].

Для проведения ПЦР использовалась реакционная смесь конечным объёмом 25 мкл, включающая: от 5 до 25 нг ДНК, праймеры в количестве от 10 до 25 пмоль, по 200 мкмоль каждого из дНТФ, 1х буфер (10 ммоль трис pH 8,6, 50 ммоль KCl, 0,1 % tween-20), 1,5 ммоль MgCl₂ и 1,3-2,5 ед. акт. Таq-полимеразы.

Концентрация, нативность, подвижность ДНК, концентрация и специфичность амплифицированных фрагментов генов, а также результаты расщепления продуктов ПЦР рестриктазами HinfI (ген RYR1), HinfI (ген H-FABP – аллельная система H), HaeIII (ген H-FABP – аллельная система D), PvuII (ген ESR) оценивались электрофоретическим методом в агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, с помощью трансиллюминатора в УФ-свете с длиной волны 260 нм с использованием компьютерной видеосистемы и программы «VItran».

Для изучения ассоциации генов-маркеров с репродуктивными признаками свиноматок, собственной продуктивностью хряков различных генотипов и линий были изучены: многоплодие свиноматок (гол.), эффективность оплодотворения (%) за весь период использования; продуктивность дочерей – многоплодие (гол.) и молочность (кг).

При составлении подбора родительских пар для получения ремонтного молодняка были отобраны высокопродуктивные основные матки различных семейств с учётом происхождения.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Проведённая в КСПУП «Селекционно-гибридный центр «Заречье» и КСУП «Племенной завод «Ленино» оценка основных хряков и свиноматок ведущих линий и семейств белорусской чёрно-пёстрой породы с использованием ДНК-тестирования по гену RYR1 не выявила мутантный аллель п

данного гена, что указывает на стрессустойчивость изучаемых животных, их высокие адаптационные способности и потенциальные возможности по использованию в промышленном свиноводстве. При изучении у хряков и свиноматок различных линий и семейств белорусской чёрно-пёстрой породы полиморфизма гена H-FABP, оказывающего влияние на внутриклеточный липидный обмен и связанное с этим содержание внутримышечного жира, установлено, что по D-системе гетерозиготных (Dd) животных мясного направления было 18,8 и 21,4 %, соответственно (таблица 1).

Таблица 1 – Частоты встречаемости аллелей и генотипов по D-системе гена H-FABP у хряков и свиноматок белорусской чёрно-пёстрой породы

Половозрастные группы	n	Частоты встречаемости				
		генотипы, %			аллели	
		DD	Dd	dd	D	d
Хряки	16	81,3	18,7	-	0,906	0,094
Свиноматки	28	71,4	21,4	7,2	0,821	0,179

При этом среди протестированных маток были выявлены 7,2 % гомозиготного генотипа (dd), что характерно для мясных животных. Из восьми линий хряки трёх – Копылок 557, Тик 298 и Корелич 913 – имеют генетические предпосылки для повышения мясности получаемого потомства. Оценка хряков и свиноматок по аллельной системе H гена H-FABP позволила установить, что у свиноматок предпочтительный генотип HH встречается на 30,0 % чаще, чем у хряков, что указывает на перспективность проведения селекции по совершенствованию мясных качеств молодняка через материнскую форму (таблица 2).

Таблица 2 – Частоты встречаемости аллелей и генотипов по H-системе гена H-FABP хряков и свиноматок белорусской чёрно-пёстрой породы

Половозрастные группы	n	Частоты встречаемости				
		генотипы, %			аллели	
		HH	Hh	hh	H	h
Хряки	16	37,5	43,8	18,8	0,594	0,406
Свиноматки	28	67,9	25,0	7,1	0,804	0,196

Проведённое тестирование свиноматок и хряков белорусской чёрно-пёстрой породы по гену эстрогенового рецептора (ESR) позволило установить, что желательный генотип ВВ встречается у 7,0-6,0 % животных (таблица 3).

Таблица 3 – Частоты встречаемости аллелей и генотипов по гену ESR у хряков и свиноматок белорусской чёрно-пёстрой породы

Половозрастная группа	n	Частоты встречаемости				
		генотипы, %			аллели	
		AA	AB	BB	A	B
Хряки	17	64,7	29,4	5,9	0,765	0,235
Свиноматки	28	53,6	39,3	7,1	0,714	0,286

Многоплодие маток генотипа BB составило 11 поросят, что выше на одного поросёнка по сравнению со средним показателем по стаду и на 1,2 поросёнка по сравнению с животными генотипа AA ($P \leq 0,01$) (таблица 4).

Таблица 4 – Многоплодие свиноматок белорусской чёрно-пёстрой породы в зависимости от генотипа по гену ESR

Генотип	n	Многоплодие, гол		Разница к генотипу AA
		$M \pm m$	$C_v \pm m_{cv}$	
AA	15	9,8±0,17	6,86±1,25	
AB	11	9,7±0,24	8,21±1,75	- 0,1
BB	2	11,0±0,30**	3,86±1,93	+1,2

Примечание: ** - $P \leq 0,01$

Проведение селекции на консолидацию высоких репродуктивных качеств свиноматок с использованием выявленных животных желательного генотипа позволит ускорить процесс совершенствования данных признаков у отдельно взятого семейства, стада и породы в целом.

Прежде чем использовать какой-либо ген в маркерной селекции, недостаточно изучить и выявить его достоверное влияние на определённые продуктивные признаки животных. Необходимо также исключить возможность отрицательного плейотропного действия данного гена на ряд основных селекционируемых признаков [4].

Комплексная оценка хряков-производителей основного стада КСПУП «СГЦ «Заречье» с использованием генов-маркеров не выявила значимого плейотропного эффекта гена H-FABP на показатели продуктивности дочерей. Хряки Карат 4099 и Тик 4055, относящиеся к мясным линиям (по происхождению и генотипу), имея эффективность оплодотворения около 83 %, по-разному влияют на репродуктивные качества дочерей (таблица 5). Карат 4099, имеющий наибольшие генетические предпосылки к повышению мясности, снижает репродуктивные показатели дочерей в среднем на одного поросёнка. Другой хряк – Тик 4055, гомозиготный по системе H гена H-FABP, повышает много-

плодие получаемых маток на 0,5 поросёнка. Чистопородные хряки Корелич 9025 и Макет 7513, отселекционированные по воспроизводительным качествам, имеющие средние и вышесредние показатели собственной продуктивности, способствовали высокому многоплодию у дочерей с двумя и более опоросами – 10-10,5 поросят.

Таблица 5 – Частота встречаемости по генам RYR1, ESR, H-FABP и оценка продуктивности основных хряков КСПУП «СГЦ «Заречье»

Кличка и инд. номер хряка	Генотипы				Эффективность оплодотворения свиноматок, %	Продуктивность дочерей хряка					
	RYR 1	ESR	H-FABP			первоопороски			с 2 и более опоросами		
			H	D		число дочерей, гол.	многоплодие, гол.	молочность, кг	число дочерей, гол.	многоплодие, гол.	молочность, кг
Карат 4099	NN	AA	HH	Dd	83,7	3	8,5	50	16	9,2	51
Кореличи 9025	NN	AA	Hh	Dd	90,4	9	8,1	50	22	10,5	52
Макет 7513	NN	AB	HH	DD	85,4	5	8,0	51	14	10,0	50
Тик 4055	NN	AA	HH	DD	83,5	7	9,4	50	11	10,4	53

На основании проведённого генетического тестирования и оценки собственной продуктивности хряков и свиноматок, разводимых в КСПУП «СГЦ «Заречье», составлен план подбора родительских пар для получения ремонтного молодняка (таблица 6). Сделано закрепление высокопродуктивных маток за оцененными хряками по трём селекционным направлениям – многоплодию, мясности и мясности-многоплодию. Для саморемонта отбирается молодняк с гомозиготным и гетерозиготным генотипом по генам: RYR 1 (NN), H-FABP (dd и Dd, HH), ESR (BB, AB). Получение высокопродуктивного ремонтного молодняка с определённым генотипом по генам, влияющим на показатели селекционируемых признаков, позволит эффективно совершенствовать семейства, используя при этом потенциал хряков.

Таблица 6 – Подбор родительских пар для получения ремонтного молодняка в КСПУП «СГЦ «Заречье» с учётом генотипа хряков и воспроизводительных качеств свиноматок

Кличка и индивидуальный номер свиноматки	Кличка и инд. № хряка	Примечание
Шипяна 1074, 1058, 1492, 2534, Ласточка 1570, 1802, 1404, Шкода 3582, 9358, Тайга 1110	Макет 7513	селекция на многоплодие
Тайга 206, 3062, 572, 1474, 3036, Ласточка 1078	Корелич 9025	селекция на многоплодие
Ромашка 1034, Тайга 2258, Злая 2428, Ласточка 2588 Ласточка 3528, 3552, 1736, 3530	Карат 4099 Тик 4055	селекция на мясность селекция на мясность и многоплодие

Селекционная работа с белорусской чёрно-пёстрой породой направлена на консолидацию наследственности (получение гомозиготных особей) и поддержание фенотипического разнообразия среди линий и семейств. Создание в породе отселекционированных высокопродуктивных линий хряков и семейств свиноматок, которые имеют устойчивую наследственность, повысит эффективность использования и востребованность породы в племенном и промышленном свиноводстве.

Заключение. Проведённое молекулярно-генетическое тестирование по комплексу генов RYR 1, H-FABP и ESR позволило установить, что все животные были стрессустойчивы (генотип NN по гену RYR 1). Предпочтительный для селекции на многоплодие генотип BB по гену ESR встречался с частотой 7,1 % у свиноматок и 59 % у хряков-производителей. Концентрация генотипов HH и dd по гену H-FABP, обеспечивающих более высокие показатели откормочных и мясных качеств, находилась на уровне 67,9 и 7,2 % у свиноматок, соответственно, и 37,5 % у хряков-производителей (в данной половозрастной группе генотип dd не идентифицирован).

Установлено, что многоплодие свиноматок генотипа BB по гену ESR было выше на 1 поросёнка по сравнению со средним показателем по стаду и на 1,2 поросёнка по сравнению с животными генотипа AA ($P \leq 0,01$).

Значимого плейотропного влияния гена H-FABP на показатели ре-

продуктивных признаков свиноматок и собственную продуктивность хряков-производителей не выявлено, что позволяет использовать данный ген в селекции на повышение откормочных и мясных качеств без риска снижения репродуктивных показателей.

Для саморемонта отбирается молодняк, полученный от родителей с гомозиготным и гетерозиготным генотипом по генам: RYR 1 (NN), D и H-FABP (dd и Dd, HH), ESR (BB, AB). Систематическое проведение ДНК-тестирования родительских форм позволяет исключить нежелательные генотипы и ускоряет целенаправленную селекционную работу с отдельными линиями и семействами по совершенствованию мясных и воспроизводительных признаков породы.

На основании проведенного генетического тестирования и оценки собственной продуктивности хряков и свиноматок, разводимых в КСПУП «СГЦ «Заречье», составлен план подбора родительских пар для получения высокопродуктивного ремонтного молодняка, позволяющий эффективно совершенствовать семейства, используя при этом потенциал хряков.

Литература

1. Гладырь, Е. А. Использование маркерных генов в свиноводстве / Е. А. Гладырь, Р. Ю. Арсиенко, 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. Методические рекомендации по применению ДНК-тестирования в животноводстве Беларуси / И. П. Шейко [и др.]. – Жодино, 2006. – 26 с.
4. Влияние гена эстрогенового рецептора на продуктивность свиноматок белорусской мясной и крупной белой пород / И. П. Шейко [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2007. – Т. 42. – С. 159-165.

(поступила 23.02.2011 г.)