

УДК 636.4.082.2

О. А. ЕПИШКО

ГЕНЫ, ДЕТЕРМИНИРУЮЩИЕ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ СВИНОМАТОК

Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству

(Поступила в редакцию 05.01.2008)

Введение. В ходе интенсивного породообразовательного процесса, направленного на создание мясных генотипов свиней, наряду с высокими мясными качествами животные должны обладать и высокой воспроизводительной функцией. Однако ввиду низкой наследуемости данных признаков их увеличение требует значительных временных затрат, особенно у мясных пород. По данным А. В. Овчинникова [1], для того чтобы увеличить многоплодие на 0,8 гол., необходимо в течение 16 лет вести отбор на многоплодие при 50%-ной браковке маток. Одним из подходов повышения эффективности селекционной работы является применение ДНК-маркеров, позволяющих вести отбор и подбор родительских форм на генном уровне. В соответствии с положениями популяционной генетики предполагается, что количественные признаки, к которым относится и размер гнезда, обуславливаются целым комплексом генов, каждый из которых в большей или меньшей мере оказывает влияние на проявление данного признака.

Согласно многочисленным сообщениям зарубежной научной литературы, в селекционной практике наиболее часто применяются гены-маркеры, влияющие на проявление воспроизводительных признаков свиноматок: ген (ESR) эстрогенового рецептора, определяющий развитие вторичных половых признаков по женскому типу; ген (PRLR) пролактинового рецептора, основанный на биологической способности свиней к многоплодию и выкармливанию поросят, и β -субъединица фолликулостимулирующего гормона (FSH β), регулирующего фолликулогенез. Применение данных маркерных генов в племенной работе позволит проводить селекцию по генотипу непосредственно на уровне ДНК, не учитывая изменчивость хозяйственно полезных признаков, и до 18% повысит репродуктивные качества маток за одно поколение [2–4].

Цель настоящих исследований – поиск и использование в племенной работе генов-маркеров, позволяющих эффективно проводить селекцию на увеличение репродуктивных признаков.

Материалы и методы исследований. Исследования проведены в Научно-практическом центре НАН Беларуси по животноводству в 2006–2008 гг. В качестве объекта исследований были использованы свиноматки белорусской мясной породы, разводимые в РСУП СГЦ «Заднепровский» Оршанского района Витебской области.

В процессе работы методом ПЦР-ПДРФ исследован полиморфизм генов ESR – у 534, PRLR – у 426 и FSH β – у 421 матки белорусской мясной породы.

ДНК экстрагировали из проб ткани животного перхлоратным методом [5]. Оценку концентрации, степени очистки, нативности и подвижности ДНК проводили электрофоретическим методом на агарозном геле. Для амплификации участка генов ESR, PRLR и FSH β подобраны праймеры и их концентрация.

Разработана программа проведения ПЦР с некоторыми изменениями температурных и временных профилей реакции, что обеспечило оптимальную амплификацию участков генов ESR, PRLR и FSH β , несущих точковую мутацию:

ESR: ПЦП-программа: «горячий старт» – 4 мин при 94 °С; 35 циклов: денатурация – 1 мин при 94 °С, отжиг – 1 мин при 65 °С, синтез – 1 мин при 72 °С; достройка – 8 мин при 72 °С;

PRLR: ПЦП-программа: «горячий старт» – 4 мин при 94 °С; 35 циклов: денатурация – 30 с при 94 °С, отжиг – 1 мин при 59 °С, синтез – 30 с при 72 °С;

FSH β : ПЦП-программа: «горячий старт» – 4 мин при 94 °С; 33 цикла: денатурация – 1 мин при 94 °С, отжиг – 1 мин при 60 °С, синтез – 1 мин при 72 °С; достройка – 7 мин при 72 °С.

Составлена реакционная смесь для проведения амплификации генов ESR, PRLR и FSH β объемом 25 мкл, содержащая 1×Tag-буфер, 2 мМ дНТФ (4×0,5мМ каждого), 10 пМ каждого праймера, 1,5 ед. акт. Tag-полимеразы, 100–200 нг геномной ДНК.

Оптимизированы параметры проведения рестрикции участков генов ESR, PRLR и FSH β с использованием эндонуклеаз – PvuII, AluI и BsuRI соответственно. Реакцию проводили при температуре 37 °С в течение 3–4 ч в реакционной смеси, содержащей 15 ед. акт. рестриктазы, 15 мкл амплификата. Продукты рестрикции генов ESR и FSH β разделяли электрофоретически в 4%-ном, PRLR – в 3%-ном агарозном геле. 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 и FSH β , а также генетическое равновесие в популяции маток белорусской мясной породы рассчитывали по Е. К. Меркурьевой [7].

Для выявления ассоциации генов ESR, PRLR и FSH β с репродуктивными признаками свиней оценивали продуктивность маток различных генотипов по количеству родившихся поросят (гол.), в том числе живых (гол.), в 21 день (гол.) и при отъеме в 30 дней (гол.), по массе гнезда живорожденных поросят (кг), молочности (кг) и массе гнезда при отъеме (кг), по сохранности (%) и проценту аварийных опоросов.

Результаты и их обсуждение. В результате молекулярно-генетического тестирования свиноматок белорусской мясной породы был выявлен полиморфизм генов ESR, PRLR и FSH β . Анализ полиморфизма маток по гену ESR показал, что в популяции большинство маток (61,20%) являются носителями генотипа ESR^{AA}, 31,50% – ESR^{AB} и 7,30% – ESR^{BB} (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Генетическая структура свиноматок белорусской мясной породы по генам ESR, PRLR и FSH β

Ген	Количество животных, гол.	Распределение	Частота встречаемости генотипов, %	Частота встречаемости аллелей	χ^2
ESR	534	Ф	AA – 61,20 AB – 31,50 BB – 7,30	A – 0,770 B – 0,230	6,84**
		О	AA – 59,30 AB – 36,00 BB – 5,30		
PRLR	426	Ф	AA – 21,60 AB – 51,87 BB – 26,53	A – 0,475 B – 0,525	0,67
		О	AA – 22,50 AB – 49,90 BB – 27,60		
FSH β	421	Ф	AA – 0,00 AB – 8,60 BB – 91,40	A – 0,040 B – 0,960	1,11
		О	AA – 0,15 AB – 7,70 BB – 92,15		

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

Частота встречаемости аллелей ESR^A и ESR^B составила 0,230 и 0,770 соответственно. Частоты встречаемости генотипов и аллелей по гену PRLR в популяции маток распределились следующим образом: PRLR^{AA} – 21,60%, PRLR^{AB} – 51,87%, PRLR^{BB} – 26,53%, PRLR^A – 0,475, PRLR^B – 0,525. При анализе полиморфизма гена FSH β диагностированы аллели FSH β ^A и FSH β ^B – 0,040 и 0,960, а также генотипы FSH β ^{AB} и FSH β ^{BB} – 8,60 и 91,40%, соответственно.

Из протестированных маток белорусской мясной породы были созданы опытные группы (по 20 гол. в каждой группе) по генам ESR, PRLR и FSH β .

Результаты исследований, полученные в опытных группах, считаем возможным экстраполировать на популяцию свиноматок белорусской мясной породы, разводимых в РСУП «СГЦ «Заднепровский» в целом. При изучении ассоциации полиморфизма гена ESR с репродуктивными признаками свиноматок опытной группы выявлена закономерность положительного влияния аллеля ESR^B на ряд показателей табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Продуктивность свиноматок белорусской мясной породы по опоросам в зависимости от генотипа по гену ESR, РСУП СГЦ «Заднепровский»,

Показатель	Генотип ESR		
	AA	AB	BB
Количество голов	20	20	20
Количество опоросов на одну свиноматку	3,8±0,5	3,7±0,4	4±0,6
Количество опоросов, всего	77	74	80
Количество родившихся поросят всего, гол.	1,3±0,2	1,1±0,3	11,3±0,2*
в том числе живых, гол.	9,7±0,3	10,4±0,3	10,7±0,2*
Масса гнезда при рождении, кг	15,0±0,5	16,2±0,5	16,1±0,3
Количество поросят в 21 день, гол.	8,2±0,4	8,7±0,2	8,9±0,2
Молочность, кг	48,2±3,7	53,0±2,2	52,4±1,5
Количество поросят при отъеме, гол.	8,1±0,4	8,6,0±0,2	8,8±0,2
Масса гнезда при отъеме в 30 дней, кг	81,5±6,8	83,0±3,6	85,8±2,9
Сохранность поросят, %	82,5±4,9	83,8±2,1	83,0±2,0
Процент аварийных опоросов	19,9±4,4	16,1±4,3	13,1±4,2

* Разница между показателями генотипов BB и AA достоверна при $P < 0,05$. То же для табл. 3, 4.

Т а б л и ц а 3. Продуктивность свиноматок белорусской мясной породы по опоросам в зависимости от генотипа по гену PRLR

Показатель	Генотип PRLR		
	AA	AB	BB
Количество голов	20	20	20
Количество опоросов на одну свиноматку	3±0,4	4,4±0,5	3,2±0,4
Количество опоросов, всего	60	88	64
Количество родившихся поросят всего, гол.	12,3±0,2*	11,8±0,2	11,0±0,4
в том числе живых, гол.	11,9±0,2*	11,4±0,2	10,8±0,4
Масса гнезда при рождении, кг	18,4±0,6*	17,0±0,5	15,7±0,9
Количество поросят в 21 день, гол.	10,1±0,1**	9,5±0,2	9,5±0,2
Молочность, кг	57,1±1,4	54,5±1,2	53,9±1,9
Количество поросят при отъеме, гол.	10,0±0,1*	9,5±0,2	9,3±0,2
Масса гнезда при отъеме в 30 дней, кг	92,5±3,6	94,0±5,8	94,3±5,0
Сохранность поросят, %	85,4±2,4	83,8±2,2	87,4±2,1
Процент аварийных опоросов	4,3±2,5*	10,4±3,7	19,3±5,8

** Разница между показателями генотипов BB и AA достоверна при $P < 0,01$.

Установлено, что свиноматки с генотипом ESR^{BB} превосходили животных с генотипом ESR^{AA} по количеству родившихся поросят (всего) на 0,9 ($P < 0,05$), в том числе живых – на 0,9 ($P < 0,05$), количеству поросят в 21 день – на 0,6 и при отъеме – на 0,7 поросенка. Также выявлена тенденция увеличения массы гнезда при рождении, в 21 день и при отъеме, снижения процента аварийных опоросов у свиноматок с генотипом ESR^{BB}.

При изучении ассоциации гена PRLR с репродуктивными признаками выявлено положительное влияние аллеля PRLR^A на ряд данных признаков (табл. 3).

Установлено превосходство свиноматок с генотипом PRLR^{AA} по сравнению с животными с генотипом PRLR^{BB} по количеству родившихся поросят на 1 ($P < 0,05$), в том числе живых – на 1,07 ($P < 0,05$), количеству поросят в 21 день – на 0,6 поросенка ($P < 0,05$). Выявлено увеличение массы гнезда при рождении ($P < 0,05$), снижение процента аварийных опоросов ($P < 0,05$). У свиноматок с генотипом PRLR^{AB} отмечен более длительный срок использования маток, что, возможно, связано с жизненным преимуществом обеспечивающего гетерозиготой.

При изучении исследования взаимосвязи полиморфных вариантов гена FSH β с репродуктивными признаками свиноматок не выявлено значительных различий по показателям многоплодия (табл. 4). Однако у свиноматок с генотипом FSH β ^{BB} установлено увеличение по количеству поросят в 21 день на 0,4 поросенка ($P < 0,05$) по сравнению с матками генотипа FSH β ^{AB}. По остальным показателям наблюдалась тенденция увеличения количества поросят при отъеме на 0,4 поросенка, увеличение массы гнезда при рождении и в 21 день – на 0,4 и 0,4 поросенка, а также увеличение сохранности на 3,4% и снижение процента аварийных опоросов на 2,2%.

Т а б л и ц а 4. Продуктивность свиноматок белорусской мясной породы по опоросам в зависимости от генотипа по гену FSH β , РСУП СГЦ «Заднепровский»

Показатель	Генотип FSH β	
	AB	BB
Количество голов	20	20
Количество опоросов на одну свиноматку	3,7 \pm 0,4	3,2 \pm 0,5
Количество опоросов, всего	75	64
Количество родившихся поросят всего, гол.	12,0 \pm 0,4	12,0 \pm 0,2
в том числе живых, гол.	11,4 \pm 0,3	11,3 \pm 0,2
Масса гнезда при рождении, кг	16,8 \pm 0,4	17,3 \pm 0,6
Количество поросят в 21 день, гол.	9,7 \pm 0,1	10,1 \pm 0,1*
Молочность, кг	55,1 \pm 1,4	58,5 \pm 1,3
Количество поросят при отъеме, гол.	9,7 \pm 0,1	10,1 \pm 0,1
Масса гнезда при отъеме в 30 дней, кг	102,3 \pm 7,3	93,7 \pm 3,3
Сохранность поросят, %	86,2 \pm 2,7	89,7 \pm 2,0
Процент аварийных опоросов	5,9 \pm 3,0	3,6 \pm 1,7

Заключение. В результате проведенных исследований оптимизированы параметры проведения ПЦР–ПДРФ анализа фрагмента генов ESR, PRLR и FSH β к требованиям массового анализа.

При изучении полиморфизма данных генов у маток в популяции белорусской мясной породы выявлена закономерность положительного влияния аллеля ESR^B и PRLR^A на общее количество, родившихся, в том числе живых поросят. Свиноматки с генотипом ESR^{BB} и PRLR^{AA} превосходили свиноматок с генотипом ESR^{AA} и PRLR^{BB} по количеству родившихся поросят на 9,3% ($P < 0,05$) и 11,4% ($P < 0,05$), в том числе живых – на 9,8% ($P < 0,05$) и 9,8% ($P < 0,05$) соответственно. У маток с генотипом PRLR^{AA} установлены различия по количеству поросят в 21 день на 6,4% ($P < 0,05$) и количеству поросят при отъеме – на 7,6% ($P < 0,05$), а также увеличение массы гнезда при рождении на 17,6% ($P < 0,05$).

Установлена закономерность превосходства животных с генотипом ESR^{BB} и PRLR^{AA} на репродуктивные признаки свиноматок, а наименее желательным для селекции на улучшение репродуктивных качеств свиноматок является генотип ESR^{AA} и PRLR^{BB}.

По гену FSH β не установлено четкой закономерности достоверного влияния определенного генотипа на репродуктивную функцию свиноматок, в связи с чем мы не можем рекомендовать его как маркер продуктивности для маток белорусской мясной породы. Это связано с тем, что у протестированных свиноматок, не выявлено животных с генотипом FSH β^{AA} , а сравниваются лишь матки с генотипом FSH β^{BB} и FSH β^{AB} . Возможной причиной отсутствия животных с генотипом FSH β^{AA} является направление селекции данной породы на увеличение мясной продуктивности.

Литература

1. О в ч и н н и к о в А. В. Научные и практические аспекты подбора в племенном и промышленном свиноводстве: дис. ... д-ра с.-х. наук. М., 2006. С. 131.
2. А д а м е н к о В. А. Генотипирование свиней ООО «Троснянский бекон» по гену β -субъединицы фолликуло-стимулирующего гормона (FSH β) как маркера плодовитости свиней // Сб. материалов IV междунар. науч. конф. М., 2004. С. 30–34.
3. А н д р у ш к е в и ч Е. В. Эффективность использования стрессустойчивых свинок для воспроизводства стада промышленного комплекса // Перспективы развития свиноводства: Материалы X междунар. науч.-произв. конф., 8–9 июля 2003 г. С. 115–117.
4. К а л а ш н и к о в а Л. А. ДНК-технологии оценки сельскохозяйственных животных // ВНИИплем. Лесные Поляны, 1999. С. 72–80.
5. I s l e r B. J. Examination of the relationship between the estrogen receptor gene and reproductive traits in swine // J. Anim. Sc. 2002. N 80. P. 2334–2339.
6. М а н и а т и с Т. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. С. 135–139.
7. М е р к у р ь е в а Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве. М.: Колос, 1977. С. 98–103.

О. А. YEPISHKO

GENES DETERMINING THE REPRODUCTIVE FUNCTION OF SOWS

Summary

The association of ESR, PRLR genes and FSH β hormone genes is studied with reproductive traits of sows of Belarusian meat breed. The appropriateness of the positive influence of allele ESR^B, PRLR^A on the total quantity of the born piglets, including live piglets up to 11% ($P < 0.05$), is determined. A tendency of the increase of a litter weight, the safety of pigs, the decrease in percentage of emergency farrows of sows with ESR^{BB}, PRLR^{AA} has been revealed. There is no clear appropriateness of the influence of a definite genotype on the reproductive function of sows by the FSH β gene.