

ПРОИЗВОДСТВО КОНКУРЕНТОСПОСОБНОЙ СВИНИНЫ НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ

Лобан Н.А., Чернов А.С.*, Каспирович Д.А.**

**РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству»,
г. Жодино, Республика Беларусь, 222160

**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Впервые в Беларуси разработаны эффективные методы маркер-зависимой селекции, направленные на повышение продуктивных признаков и профилактики заболеваний свиней белорусской крупной белой породы. Использование данных методик на практике позволяет увеличить многоплодие свиноматок породы на 0,5-1,5 поросенка, повысить сохранность молодняка на 1,1-5,7%, увеличить среднесуточные приросты на 17 г, снизить затраты корма на 0,04 к.ед.

For the first time in Belarus effective methods a marker-dependent the selections directed on increase of productive attributes and preventive maintenance of diseases of pigs of the Belarusian Large White breed are developed. Use of the given techniques in practice allows to increase prolificacy of sows of breed by 0,5-1,5 piglets, to raise safety is young pigs on 1,1-5,7%, to increase average daily gain on 17 g, to lower feed expenses for 1 kg of gain on 0,04 FU.

Введение. В настоящее время в свиноводстве широко используются новые разработки, основанные на применении методов молекулярной генной диагностики животных. Генная диагностика – новая форма оценки животных, используемая дополнительно к традиционной характеристике животных по фенотипу и базирующиеся непосредственно на анализе ДНК. Возможность проведения ДНК-диагностики признаков продуктивности непосредственно на уровне генотипа означает, что селекционная оценка может применяться в раннем возрасте без учета изменчивости признаков, обусловленных внешней средой, что дает преимущество перед традиционной селекцией [4].

В качестве генетических маркеров признаков продуктивности свиней, представляющих практический интерес, нами изучались: рианодиновый рецептор (Ryr-1) - ген-кандидат чувствительности животных к стрессам; эстрогеновый рецептор (ESR) - плодовитости свиней; рецептор E.Coli (ECR F 18) FUT 1 - чувствительности к заболеванию колибактериозу; ген инсулиноподобного фактора роста (IGF-2) - обуславливающий откормочную и мясную продуктивность свиней [2, 3].

Цель работы - изучение полиморфизма генов Ryr-1, ESR, E.Coli (ECR F 18) FUT 1 и IGF-2 и разработка эффективных методов маркер-зависимой селекции на повышение продуктивных признаков и профилактики заболеваний свиней.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в условиях племязаводов, селекционно-гибридных центров и свинокомплексов на всех половозрастных группах свиней белорусской крупной белой породы в различных регионах страны. У опытных животных пробы генетического материала отбирали с ушной раковины, из которых в лаборатории молекулярной генетики (ВИЖ, Россия) были выделены и оптимизированы

тест-системы для анализа полиморфизма генов методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР). Статистическую обработку проводили по стандартной методике (Меркурьева и др., 1991).

Результаты исследований и их обсуждение. *Рианодиновый рецептор (Ryr-1).* Одной из проблем в свиноводстве является чувствительность свиней к стрессам - «синдром злокачественной гипертермии», ведущий к большим экономическим потерям в результате снижения продуктивности, смертности животных и ухудшения качества мяса. Установлено, что чувствительность к злокачественной гипертермии вызывается точковой мутацией гена рианодинового рецептора Ryr 1. Были точно идентифицированы генотипы свиней (NN – стрессоустойчивые носители; Nn – стрессоустойчивые скрытые носители; nn – стрессочувствительные носители).

Результаты исследований по генетическому тестированию свиней белорусской крупной белой породы представлены в табл. 1.

Стрессоустойчивость изучалась у основных и ремонтных хряков и свиноматок, а также откормочном молодняке в различных регионах республики.

Анализ данных таблицы 1 показал, что у свиней белорусской крупной белой породы стрессочувствительный ген в гомозиготном состоянии nn выделен не был, а гетерозиготная форма генотипа Nn встречалась с частотой 1,3%. Полученные данные согласуются с результатами исследований, проведенных в России, где получены следующие результаты (NN - 96,4-100%; Nn - 0,0-3,6%; nn - 0,0%) [7].

Таблица 1. Частота аллелей и генов рианодинового гена-рецептора у свиней белорусской крупной белой породы

Хозяйство	Половозрастная группа	Голов	Частота гена, %			Частота аллелей	
			NN	Nn	nn	N	n
СГЦ «Заднепровский»	хр. основные	20	100,0	0,0	0,0	1,0	0,0
-//-	хр. ремонтные	36	100,0	0,0	0,0	1,0	0,0
-//-	контр.откорм	47	95,7	4,3	0,0	0,98	0,02
Племзавод «Индустрия»	хр. основные	59	100,0	0,0	0,0	1,0	0,0
С-з -комб. «Заря»	св. основные	87	100,0	0,0	0,0	1,0	0,0
В среднем		384	98,7	1,3	0,0	0,99	0,01

Таким образом, низкая частота встречаемости, а также отсутствие чувствительных к стрессам животных с генотипом nn у свиней белорусской крупной белой породы указывает на отсутствие необходимости проведения у них в дальнейшем полномасштабной молекулярной генной диагностики стрессовой чувствительности. С целью исключения появления стрессочувствительных животных достаточно проведения диагностики среди хряков.

Эстрогеновый рецептор (ESR). Прямая селекция свиней на плодовитость характеризуется малой эффективностью из-за низкой наследуемости признака и ограниченного полом проявления. В этой связи использование в качестве генетического маркера гена эстрогенового рецептора (ESR), связанного с воспроизводительными качествами свиней представляет практический интерес. Полиморфизм данного гена обусловлен наличием двух аллелей – А и В, причем предпочтительным с точки зрения селекции является генотип ВВ [1].

Результаты исследований свиней белорусской крупной белой породы на полиморфизм эстрогенового рецептора (ER) представлены в табл. 2.

Таблица 2. Частота аллелей и генов эстрогенового рецептора белорусской крупной белой породы свиней

Хозяйство	Пол	Кол-во голов	Частота гена, %			Частота аллелей	
			АА	АВ	ВВ	А	В
СГЦ «Заднепровский»	хр. основ.	51	13,7	45,1	41,2	0,36	0,64
	св. основ.	113	31,8	49,6	18,6	0,57	0,43
РУСПП «Свинокомплекс Борисовский»	хр. основ.	48	22,9	50,0	27,1	0,48	0,52
	св. основ.	112	25,0	51,8	23,2	0,51	0,49
п/з «Индустрия»	хр. основ.	58	18,9	46,6	34,5	0,42	0,58
с/к «Заря»	св. основ.	73	47,9	41,1	11,0	0,68	0,32
ЗАО «Нарцисово»	св. основ.	23	39,1	17,4	43,5	0,48	0,52
ЗАО «Огневское»	св. основ.	68	33,8	51,5	14,7	0,60	0,40
ООО ТД «Ждановичи-Агро»	св. основ.	93	45,2	39,8	15,0	0,65	0,35
В среднем по породе		639	30,9	43,7	25,4	0,53	0,47

Как следует из данных таблицы 2, частота встречаемости предпочтительного генотипа ВВ у животных в

различных хозяйствах варьировала в достаточно высоком диапазоне - от 11,0 до 43,5 у основных свиноматок с/к «Заречье» и ЗАО «Нарцисово» соответственно. В среднем же по породе частота встречаемости генотипа ВВ составила 25,4%, аллеля В - 0,47%, то есть находилась на достаточно высоком уровне.

Различная концентрация аллеля В в генотипе свиней по стадам зависит от породной чистоты и уровня селекционной работы. В чистопородных заводских стадах племязаводов она была максимальной (0,52-0,64) и минимальной в товарных стадах, где активно используется межпородное ротационное скрещивание.

У животных специализированных мясных пород генотип ВВ отсутствует, отмечено лишь наличие гетерозиготного генотипа АВ. Таким образом, подтверждается целесообразность использования эстрогенового рецептора ESR в качестве генетического маркера многоплодия у свиней белорусской крупной белой породы. Исследования влияния полиморфизма ESR на продуктивность свиноматок белорусской крупной белой породы проводилась в условиях промышленной технологии на предприятиях Республики Беларусь (табл. 3).

Таблица 3. Продуктивность свиноматок белорусской крупной белой породы в зависимости от генотипа ESR

Генотипы	n	Многоплодие, голов	Отъем в 35 дней		Сохранность, %
			Количество поросят	Масса гнезда, кг	
ЗАО «Нарцисово»					
AA	9	9,74±0,25	8,35±0,78	71,58±4,45	85,7±2,03
AB	4	10,63±0,63	7,93±1,02	71,3±12,1	74,6±1,27
BB	10	11,31±0,21***	9,45±0,25	73,67±3,32	83,6±1,98
ЗАО «Опневское»					
AA	23	10,11±0,2	8,94±0,18	65,18±1,12	88,4±2,1
AB	35	10,61±0,18	9,15±0,16	66,75±0,7	86,2±2,83
BB	10	11,17±0,44*	9,57±0,2*	69,24±1,25	85,7±3,0
ООО «Торговый дом «Ждановичи-Агро»»					
AA	42	9,7±0,19	7,9±0,22	60,3±1,52	81,4±2,92
AB	37	10,3±0,26	8,42±0,26	62,4±1,85	77,7±3,12
BB	15	11,27±0,42***	9,33±0,19	66,4±1,99	82,8±1,62
Племферма РУСПП «Свинокомплекс Борисовский»					
AA	24	11,0±0,14	9,76±0,13	77,22±1,91*	88,7±2,12
AB	49	11,07±0,12	9,78±0,1	77,42±1,37	88,3±3,03
BB	21	11,87±0,19***	9,98±0,16	80,17±2,29	84,1±2,2
В среднем по хозяйствам					
AA	98	10,12±0,14	8,64±0,15	66,62±1,16	85,23±1,48
AB	125	10,7±0,11***	9,14±0,11**	69,79±1,03*	84,14±1,74
BB	56	11,48±0,16***	9,64±0,1***	73,37±1,4***	83,95±1,11

Примечание: здесь и далее разница с генотипом AA достоверна при * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

Анализ данных таблицы показал, что свиноматки с генотипом ВВ превосходят по многоплодию аналогов с генотипом AA на 0,87-1,57 поросенка на опорос при достоверной разнице ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Наличие в генотипе свиней аллеля В гена ESR в гетерозиготном состоянии (AB) также выражается в устойчивой тенденции повышения многоплодия – на 0,5-0,89 поросят ($p < 0,01$). Отъемная масса гнезда у свиноматок-носителей гена ВВ, выше, чем у их аналогов с генотипом AA, на 2,09-6,1 кг $p < 0,05$.

В среднем по хозяйствам отмечено достоверное превосходство свиноматок с генотипом ВВ над аналогами с генотипом AA: по многоплодию - на 13,4% ($p < 0,001$); количеству поросят к отъему - на 11,6% ($p < 0,001$); массе гнезда - на 10,1% ($p < 0,001$). Отмечено также статистически достоверное повышение показателей продуктивности у свиноматок, несущих генотип АВ, по сравнению с животными с генотипом AA.

Как известно, плодовитость наследуется и проявляется в I поколении со стороны матери. Представляет интерес изучение влияния генотипа отца по ESR на продуктивность свиноматок.

В результате проведенных исследований выявлено, что хряки, несущие генотип ВВ, оказывают положительное влияние на продуктивность покрытых ими маток, сопоставимое с влиянием аналогичного материнского генотипа. Наиболее высокое многоплодие (13 поросят) отмечено у родителей с сочетанием генотипов ♀ВВ x ♂ВВ.

По результатам наших исследований предлагается схема подбора по повышению многоплодия свиноматок белорусской крупной белой породы (рис 1).

Рецептор *E. Coli* (*ECR F 18*) *FUT 1*. Колибактериоз - остро протекающее инфекционное заболевание молодняка животных, в частности, поросят, сопровождающееся диарей и, как следствие, высокой летальностью. В качестве генетического маркера, представляющего практический интерес, рассматривается ген рецептора *E. coli* F18 (*ECR F18*). Установлено тесное сцепление этого гена с геном альфа-1- фукозилтрансферазы (*FUT 1*) макроорганизма. В гене *FUT 1* выявлен полиморфизм, причиной которого является точковая мутация А→G в позиции 307. Поросята, имеющие генотип GG, являются восприимчивыми к колибактериозу, AA – устойчивыми [5, 6].

Результаты исследований свиноматок белорусской крупной белой породы на свинокомплексе «Дражно» Витебской области представлены в табл. 4.

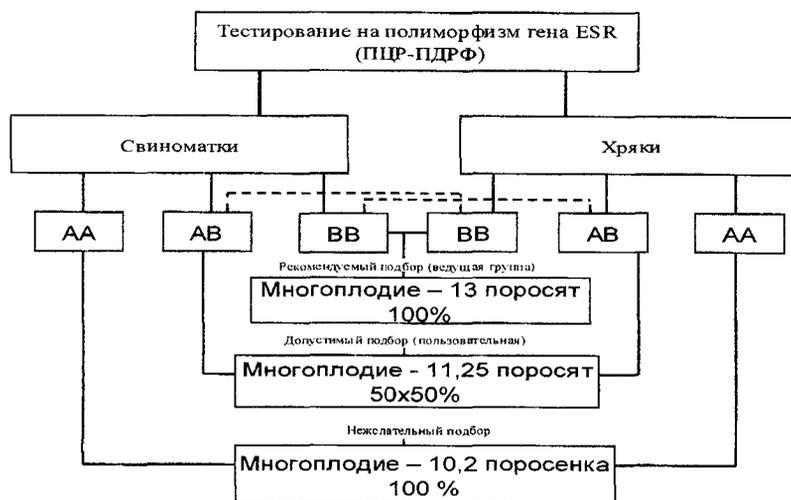


Рис. 1 Схема исследований и подбора по методу селекции на повышение многоплодия.

Таблица 4 - частота встречаемости генотипов гена ECR F18 FUT 1 у опытных свиноматок и заболеваемость поросят колибактериозом

Генотипы	Количество маток, гол	Количество опоросов	Количество поросят, голов			Сохранность, %
			всего	с признаками колибактериоза	% заболевших	
AA	7	14	121	5	4,1	97,5
AG	27	36	278	18	6,5	92,9
GG	54	54	432	36	8,3	91,8

Анализ результатов исследований показывает, что встречаемость заболевания колибактериозом у потомства свиноматок с генотипом AA была в 1,98 раза ниже, чем у животных с генотипом GG, соответственно. Сохранность поросят у маток с генотипами AA и AG на 5,7 и 1,1% соответственно выше, чем у их аналогов с генотипом GG.

Следует отметить, что частота встречаемости аллеля G у свиней белорусской крупной белой породы высока и колеблется от 68,5% (ЗАО «Дражно» Витебской области) до 83,0% (РУСПП «Свинокомплекс Борисовский» Минской области). Это связано с тем, что ген ECR F18 расположен на одной хромосоме (6) с геном риадинового рецептора Ryr1 и мутантный аллель в высокой степени связан со стрессоустойчивым аллелем гена рецептора Ryr1.

Поскольку поросята наследуют от матери только половину генетического материала (одну из двух аллелей), необходимо изучение генотипа отцов, с тем, чтобы генотипы потомства были predeterminedены. Исследования проводились в условиях племфермы РУСПП «Свинокомплекс Борисовский» Минской области на 47 хряках и 114 основных свиноматок белорусской крупной белой породы. Как у свиноматок, так и у хряков частоты встречаемости аллелей гена ECR F18 были близки – A-0,17-0,20; G- 0,80-0,83.

Таблица 5 - продуктивность свиноматок белорусской крупной белой породы в зависимости от подбора пар по генотипам по ECR F18 FUT 1

Генотип (мать x отец)	Количество опоросов	Многоплодие, гол.	Молочность кг	Отъем в 35 дней		Сохранность, %
				кол-во гол.	масса гнезда, кг	
GGx GG	27	11,52±0,21	42,37±1,56	9,41±0,17	74,04±2,10	81,7±2,12
AGx AG	11	10,82±0,23	48,55±2,25	10,09±0,25	80,73±2,74	93,3±2,85**
GGx AG	18	10,89±0,25	47,67±1,89	9,89±0,21	81,61±3,18	90,8±3,22
AGx GG	27	11,44±0,15	46,63±1,41	10,15±0,77	83,07±2,27**	91,8±2,34

В результате исследований, суммированных в таблице 5, было выявлено, что генотип отца оказывает определенное влияние на показатели продуктивности свиноматок белорусской крупной белой породы по гену ECR F18. При наличии аллеля A в генотипе как матери, так и отца (AGx AG) сохранность поросят достоверно (P<0,01) повышалась на 11,6%, или только матери или отца (AG x GG и GG x AG) – на 10,1 и 9,1% соответственно, по сравнению с потомством родителей, несущих в генотипе только аллель G.

В результате проведенных исследований выявлено, что ген ECR F18 можно рассматривать как генетический маркер, определяющий предрасположенность свиней к колибактериозу. Для белорусской крупной белой

породы свиней рекомендуется проводить генетическое тестирование родительских пар по определению полиморфизма гена ECR F18. Отбор и подбор родительских пар проводить согласно предлагаемой схеме (рис.2), с учетом генотипов, при этом отдавая предпочтение животным, несущим в своем генотипе аллель А, нивелируя пары с сочетанием генотипов GG x GG.

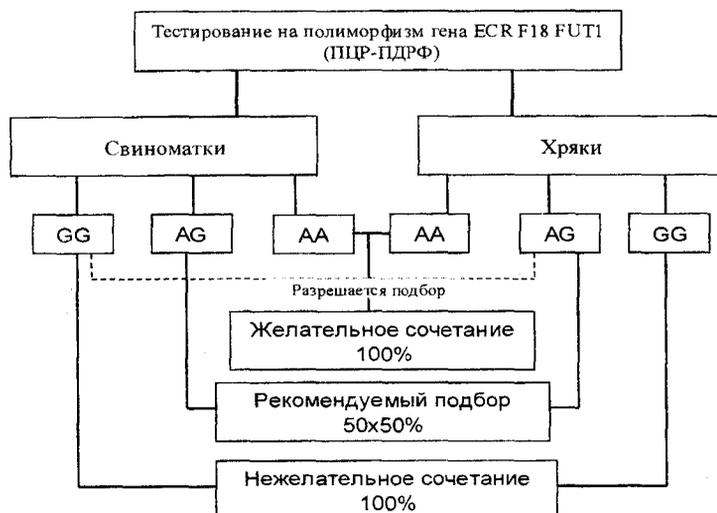


Рис. 2 Схема подбора по снижению заболеваемости поросят колибактериозом.

Ген инсулиноподобного фактора роста (IGF-2). В последнее десятилетие тенденцией в развитии современного свиноводства, как зарубежных стран, так и Республики Беларусь является целенаправленная селекция на получение животных с более высоким содержанием постного мяса и пониженным отложением жира. Сегодня выявлен целый ряд генов - потенциальных маркеров мясных качеств свиней. Одним из наиболее перспективных из них является ген инсулиноподобного фактора роста 2 (IGF-2). IGF-2 участвует в широком спектре метаболических, митогенных и дифференцирующих процессах на эмбриональных тканях и плаценте, аутокринная секреция IGF-2 играет главную роль в дифференцировке клеток скелетной мышцы. Полиморфизм гена IGF-2 обусловлен двумя аллелями - q и Q. Свиньи, несущие в своем генотипе желательный генотип QQ гена IGF-2, отличаются повышенными среднесуточными приростами живой массы и мясностью туш, более низкой толщиной шпика. У крупной белой породы генотипа QQ зафиксировано не было. Следует отметить, что положительное действие аллеля Q данного гена проявляется у потомков при наследовании его только у отца (патернальный эффект) [8].

Частоты встречаемости аллелей и генотипов гена IGF-2 у свиней белорусской крупной белой породы представлены в табл. 6.

Таблица 6. Распределение частот встречаемости генотипов гена IGF-2 у хряков белорусской крупной белой породы (n=44)

Ген	Частоты генотипов, %		
	qq	Qq	QQ
IGF-2	56,8	43,2	-

Как следует из данных таблицы 1, у хряков белорусской крупной белой породы частота встречаемости предпочтительного с точки зрения повышения откормочных и мясных качеств аллеля Q в гене IGF-2 составила 21,6%.

Результаты оценки молодняка белорусской крупной белой породы на контрольном откорме на контрольно-испытательной станции СГЦ «Заднепровский» в зависимости от генотипов по гену IGF-2 представлены в табл. 7.

Таблица 7. Продуктивность откормочного молодняка белорусской крупной белой породы в зависимости от генотипов гена IGF-2

Генотипы	Голов	Возраст достижения живой массы 100 кг, дней	Среднесуточный прирост, г	Затраты корма на 1 кг прироста, к.ед.	Длина туши, см	Толщина шпика, мм	Масса задней трети полутуши, кг
qq	182	187,9±0,27	711±2,04	3,55±0,01	97,6±0,05	26,1±0,12	10,9±0,02
Qq	147	185,9±0,51	728±3,92**	3,51±0,01*	98,0±0,04	25,3±0,11*	10,9±0,02

При сравнении животных с генотипами qq и Qq (генотипа QQ зафиксировано не было) гена IGF-2 выявлено, что потомство хряков, несущих в геноме гетерозиготный генотип Qq имеет тенденцию к превосходству по откормочным и мясным качествам своих аналогов с генотипом qq: по возрасту достижения живой массы 100 кг – на 2 дня или 1,1%; среднесуточному приросту – на 17 г, или 2,4% (P<0,01); длине туши – 0,4 см, или 0,4%. При

Ученые записки УО ВГАВМ, том 44, выпуск 2

этом затраты корма и толщина шпика у них были ниже на 0,04 к.ед., или 1,13% ($P<0,05$), и 0,8 мм, или 3,1% ($P<0,05$), соответственно.

Заключение. В заключение следует отметить, что использование методов молекулярной генной диагностики позволяет перевести селекционную работу в свиноводстве на качественно новый уровень, делает возможным получение объективного прогноза продуктивности, основываясь на истинном генетическом потенциале животных. Использование методов молекулярной генной диагностики экономически целесообразно. При относительно невысоких затратах на тестирование хряков и свиноматок значительно увеличивается экономическая эффективность производства свинины. В ближайшем будущем данные методы будут приобретать все большее значение и станут основной частью селекционной работы с породами, увеличивая ее эффективность в 2-3 раза. Создание резервных популяций с желательным генотипом позволит значительно ускорить породообразовательный процесс.

Список использованной литературы. 1. Зиновьева, Н. А. Исследование полиморфизма гена эстрогенового рецептора как маркера плодовитости свиней / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь, П. В. Ларионова, О. В. Калачанова, Н. А. Лобан // *Мат. межд. научн. конф., Дубровицы.* – 2000. т. 2. С. 50-57. 2. Зиновьева, Н. А. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь, Л. К. Эрнст, Г. Брем // *ВИЖ.* – 2002. С. 68-70. 3. Костюнина, О. В. Ген IGF-2 – потенциальный ДНК-маркер мясной и откормочной продуктивности свиней / О. В. Костюнина, А. Н. Левитченко, Н. А. Зиновьева // *«Животноводство России».* – 2008. №1. С.12-14. 4. Лобан, Н. А. Крупная белая порода свиней: методы совершенствования и использования // *Мн.: ПЧУП «Бизнесофсет».* – 2004. С. 110. 5. Лобан, Н. А. Профилактика колибактериоза поросят методами молекулярной генной диагностики / Н. А. Лобан, О. Я. Василюк // *С.-Петербург, «Практик. Журнал практикующего специалиста».* – 2005. №7-8, С. 64-65. 6. Лобан, Н. А. Возможности снижения заболеваемости поросят колибактериозом методами молекулярной генной диагностики / Н. А. Лобан, О. Я. Василюк // *«Ветеринарная медицина Беларуси».* – 2005. С. 23-25. 7. Лобан, Н. А. Молекулярная генная диагностика в свиноводстве Беларуси / Н. А. Зиновьева, О. Я. Василюк, Е. А. Гладырь // *ВИЖ.* – 2005. С. 34-37. 8. Jeon, J. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the IGF2 locus / J. Jeon, O. Carlborg, A. Tomsten, E. Giuffra // *Nat Genet.* – 1999. №21. P. 157-158.