

**МАРКЕРЗАВИСИМАЯ СЕЛЕКЦИЯ В ПРОФИЛАКТИКЕ
ЗАБОЛЕВАНИЯ СВИНЕЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПОРОД
КОЛИБАКТЕРИОЗОМ**

Д.А. Каспирович*, В.А. Дойлидов**, Н.А. Зиновьева***, О.В. Костюнина***

* УО «Полесский государственный университет»

** УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

*** ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства»

Введение. В настоящее время в свиноводстве широко используются новые разработки, основанные на применении методов молекулярной генной диагностики животных. ДНК-диагностика признаков продуктивности на уровне генотипа позволяет проводить селекционную оценку в раннем возрасте без учета изменчивости признаков, обусловленных внешней средой, что дает преимущество перед традиционной селекцией.

Надо отметить, что селекция на высокую продуктивность животных должна включать также и отбор на генетическую устойчивость к болезням и паразитам, что связано с большими экономическими потерями от использования переболевших животных [2].

В настоящее время в Беларуси одной из причин, приводящих к снижению продуктивности (энергии роста до 30%) и преждевременному выбытию молодняка свиней (летальность до 40%), является колибактериоз (заболеваемость до 90%), вызываемый патогенными штаммами *E. coli*. У новорожденных поросят колибактериоз вызывает *E. coli* с типом фибрий F4 (K 88), которая способна прикрепляться к рецепторам гликопротеина на слизистой кишечника с последующим выделением энтеротоксинов. Это в свою очередь является причиной обезвоживания и высокой смертности поросят [3]. Лечение и профилактика данного заболевания осложнены широкой вариабельностью свойств и множественной устойчивостью возбудителя к различным антибактериальным препаратам, а также недостаточной изученностью молекулярно-генетических структур эшерихий, ответственных за их патогенные и иммуногенные свойства.

Поэтому одним из перспективных путей совершенствования специфической профилактики к колибактериозу является проведение селекционных мероприятий, направленных на повышение генетической устойчивости молодняка к данному заболеванию.

В качестве возможного маркера, представляющего практический интерес, как для мирового свиноводства, так и для свиноводства Республики Беларусь, рассматривается расположенный на 13 хромосоме ген *MUC4* (муцин-4), обуславливающий предрасположенность поросят к колибактериозу в первые недели жизни – неонатальной колидиарее [1, 6, 8, 11].

Предполагается, что желательным с точки зрения устойчивости к данному заболеванию является аллель *MUC4^C* [4, 5, 7, 10].

Надо отметить, что датской селекционной программой промышленного свиноводства предусмотрено обязательное использование полиморфизма гена *MUC4* в целях создания устойчивых стад к *E. coli* F4 (ETEC) [9]. Поэтому с целью создания конкурентно способных экспортируемых свиней пород белорусской селекции и выхода на европейские стандарты необходимо проводить мониторинг племенных животных на полиморфизм гена *MUC4*.

Цель работы состояла в изучении генетической структуры популяций свиней белорусской крупной белой, белорусской мясной и белорусской черно-пестрой пород по гену *MUC4*, а также ассоциации установленных родительских генотипов с сохранностью потомков к отъему.

Материалы и методика исследований. Экспериментальная часть работы выполнялась на базе селекционно-гибридного центра «Заднепровский» Оршанского района, государственного племенного завода «Порплище» Докшицкого района и КУСП «Дуниловичи-Агро» Глубокского района Витебской области.

Генетический анализ биологического материала (биопробы ткани ушей), из которого были выделены и оптимизированы тест-системы для выявления полиморфных вариантов гена *MUC4* методом ПЦР-анализа в режиме реального времени, проводился в ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства Россельхозакадемии».

Объект исследований – свиноматки, хряки-производители и молодняк белорусской крупной белой (БКБ), белорусской мясной (БМ) и белорусской черно-пестрой (БЧП) пород.

В ходе исследований использовались методы популяционной генетики при:

– изучении генетической структуры исследуемого массива животных (рассчитаны частоты встречаемости аллелей и генотипов);

– определении генного равновесия, расчете ожидаемых и фактических частот генотипов, а также критерия χ^2 .

Обработка цифрового материала проводилась путем биометрического анализа.

Принято следующее условное обозначение уровня достоверности при сравнении полученных результатов: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$.

Результаты исследований. ДНК-тестирование позволило установить полиморфизм гена MUC4 у подопытных животных и рассчитать генетическую структуру популяций животных исследуемых пород (таблица 1).

На межпородном уровне наибольшая частота встречаемости аллеля MUC4^G отмечена у животных белорусской крупной белой и белорусской черно-пестрой пород – 0,32 и 0,36, что на 22 и 26 проц. пункта больше, чем у животных белорусской мясной породы.

В разрезе отдельных популяций высокой концентрацией аллеля MUC4^G (0,40) характеризовались популяции животных белорусской крупной белой породы (ГПЗ «Порплище»), а наименьшей – белорусской мясной (0,10) и белорусской крупной белой (0,29) пород (РСУП «СГЦ «Заднепровский»). Надо отметить, что в популяциях животных белорусской крупной белой и белорусской мясной пород (РСУП «СГЦ «Заднепровский») гомозиготного генотипа MUC4^{GG} выявлено не было. В выборке животных белорусской крупной белой породы (ГПЗ «Порплище») установлен относительно высокий удельный вес данного генотипа – 15,8%, среди животных белорусской черно-пестрой породы – 7,6%, соответственно.

Установлены достоверные различия между фактическими и ожидаемыми частотами встречаемости генотипов по гену MUC4 в популяциях свиней белорусской крупной белой (РСУП «СГЦ «Заднепровский») и белорусской черно-пестрой (КУСП «Дуниловичи-Агро») пород. При этом генетическое равновесие было смещено в сторону гетерозиготных (MUC4^{CG}) особей, в то время как частоты встречаемости генотипов MUC4^{GG} и MUC4^{CC} были ниже ожидаемых.

В дальнейшем нами был проведен анализ влияния генотипов свиноматок по гену MUC4 на сохранность их потомков к отъему (таблица 2).

Таблица 1 – Генетическая структура популяций свиней исследуемых пород по гену MUC4

Половозрастные группы	n	Распределение	Частоты встречаемости аллелей	Частоты встречаемости генотипов, %			χ^2
				CC	CG	GG	
БКБ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»							
Хряки-производители	44	Ф	C – 0,84	68,2	31,8	-	1,57
		О	G – 0,16	70,6	26,9	2,5	
Свиноматки	95	Ф	C – 0,72	29,5	70,5	-	28,10***
		О	G – 0,28	45,6	41,9	12,5	
В среднем по популяции	139	Ф	C – 0,71	41,7	58,3	-	23,50***
		О	G – 0,29	50,4	41,2	8,4	
БКБ, ГПЗ «Порплище»							
Хряки-производители	16	Ф	C – 0,66	37,5	56,25	6,2	0,90
		О	G – 0,34	43,6	44,9	11,5	
Свиноматки	22	Ф	C – 0,50	22,7	54,6	22,7	0,18
		О	G – 0,50	25,0	50,0	25,0	
В среднем по популяции	38	Ф	C – 0,60	28,9	55,3	15,8	0,59
		О	G – 0,40	32,5	49,0	18,5	
В среднем по породе	177	Ф	C – 0,68	39,0	57,6	3,4	18,10***
		О	G – 0,32	45,9	43,7	10,4	

БМ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»							
Хряки-производители	28	Ф	C – 0,91	82,2	17,8	-	0,27
		О	G – 0,09	82,8	16,4	0,8	
Свиноматки	78	Ф	C – 0,89	78,2	21,8	-	1,10
		О	G – 0,11	79,2	19,6	1,2	
В среднем по породе	106	Ф	C – 0,90	79,2	20,8	-	1,42
		О	G – 0,10	80,3	18,6	1,1	
БЧП, КУСП «Дуниловичи-Агро»							
Хряки-производители	6	Ф	C – 0,67	33,3	66,7	-	1,52
		О	G – 0,33	45,0	44,2	10,8	
Свиноматки	60	Ф	C – 0,61	30,0	61,7	8,3	5,14*
		О	G – 0,39	37,2	47,6	15,2	
В среднем по породе	66	Ф	C – 0,64	30,3	62,1	7,6	7,00**
		О	G – 0,36	41,0	46,0	13,0	

Ф – фактическое количество особей данного генотипа, полученное в опыте;

О – теоретически ожидаемое количество особей данного генотипа, которое будет соответствовать частоте аллеля в породе.

В популяции животных белорусской крупной белой породы (РСУП «СГЦ «Заднепровский») свиноматки генотипа MUC4^{CC} достоверно превосходили свиноматок генотипа MUC4^{CG} по сохранности поросят к отъему на 5,2 проц. пункта (P<0,01). Среди свиноматок аналогичной породы, разводимой в ГПЗ «Порплище», разница между свиноматками генотипов MUC4^{CC} и MUC4^{GG} по данному показателю была достоверной и составила 9,7 проц. пункта (P<0,05).

В целом по белорусской крупной белой породе свиноматки генотипа MUC4^{CC} отличались достоверно более высокой сохранностью поросят к отъему – выше на 10,1 проц. пункта (P<0,05) от носительно свиноматок генотипа MUC4^{GG}.

Таблица 2 – Влияние генотипов свиноматок по гену MUC4 на сохранность их потомков

Порода	Генотипы маток	Количество опоросов	Многоплодие, гол.	Количество поросят после выравнивания гнезд, гол.	Количество поросят при отъеме, гол.	Сохранность поросят к отъему, %
БКБ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»	CC	37	12,1±0,26	11,5±0,14	10,3±0,16*	89,3±1,45**
	CG	106	12,4±0,18	11,7±0,10	9,8±0,12	84,1±1,12
БКБ, ПЗ «Порплище»	CC	13	10,1±0,38	10,1±0,38	8,9±0,36	88,8±2,14*
	CG	31	11,1±0,29	11,0±0,28	9,4±0,27	85,9±1,72
	GG	10	11,8±0,46	11,5±0,40	9,1±0,37	79,1±3,61
В среднем по породе	CC	50	11,6±0,25	11,1±0,17	9,9±0,17	89,2±1,20*
	CG	135	12,1±0,16	11,5±0,10	9,7±0,11	84,7±0,90
	GG	10	11,8±0,46	11,6±0,40	9,1±0,37	79,1±3,61
БМ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»	CC	70	11,8±0,25	11,1±0,13	10,1±0,08	91,2±0,81*
	CG	27	12,0±0,31	11,4±0,22	9,9±0,17	86,8±1,78
БЧП, КУСП «Дуниловичи-Агро»	CC	28	9,7±0,32	9,7±0,32	8,7±0,29	90,4±1,85*
	CG	15	9,3±0,32	9,3±0,32	8,1±0,39	86,8 ±2,28
	GG	5	9,8±0,37	9,8±0,37	8,0±0,55	81,5±3,82

Аналогичная закономерность была установлена и у животных белорусской мясной породы

(РСУП «СГЦ «Заднепровский»). Так, сохранность поросят к отъему у свиноматок генотипа MUC4^{CC} была достоверно выше на 4,4 проц. пункта (P<0,05) относительно свиноматок генотипа MUC4^{CG}.

У свиноматок белорусской черно-пестрой породы (КУСП «Дуниловичи-Агро») генотипа MUC4^{CC} сохранность потомков к отъему была достоверно выше на 8,9 проц. пункта в сравнении с матками генотипа MUC4^{GG}.

Также нами изучено влияние отцовских генотипов по гена MUC4 на сохранность их потомков (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние генотипов хряков-производителей по гену MUC4 на сохранность их потомков

Порода	Генотипы хряков	Количество опоросов	Многоплодие, гол.	Количество поросят после выравнивания гнезд, гол.	Количество поросят при отъеме, гол.	Сохранность поросят к отъему, %
БКБ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»	CC	61	12,4±0,24	11,5±0,14	10,2±0,12	88,6±1,03
	CG	19	12,1±0,41	11,5±0,23	9,8±0,21	85,4±2,70
БКБ, ГПЗ «Порплище»	CC	7	11,0±0,57	11,0±0,58	8,9±0,40	81,2±3,51
	CG	44	11,6±0,34	11,2±0,24	9,0±0,23	80,8±2,08
В среднем по породе	CC	68	12,2±0,22	11,5±0,14	10,1±0,13***	87,8±1,02**
	CG	63	11,8±0,27	11,2±0,18	9,2±0,18	82,2±1,67
БМ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»	CC	44	12,2±0,30	11,4±0,19	10,2±0,14	89,5±1,21
	CG	4	11,5±1,19	11,0±0,91	9,8±0,47	89,5±3,79

Установлено, что сохранность поросят к отъему, полученных от хряков белорусской крупной белой породы (РСУП «СГЦ «Заднепровский») генотипа MUC4^{CC}, была выше на 3,2 проц. пункта относительно хряков генотипа MUC4^{CG}. Среди потомков хряков аналогичной породы из ГПЗ «Порплище» разница по сохранности поросят к отъему между отцовскими генотипами MUC4^{CC} и MUC4^{CG} составила 0,4 проц. пункта.

В среднем же по белорусской крупной белой породе хряки генотипа MUC4^{CC} имели более высокую сохранность поросят к отъему относительно хряков гетерозиготного генотипа на 5,6 проц. пункта (P<0,01).

Сохранность поросят, полученных от хряков белорусской мясной породы различных генотипов по гену муцин-4, не имела заметных отличий.

Для прогнозирования и моделирования, устойчивых к колибактериозу генотипов по локусу гена MUC4, необходимо учитывать в схемах подбора, как генотип матери, так и генотип отца (таблица 4).

Нами установлено, что использование в схемах подбора родительских форм лишь с генотипом MUC4^{CC} (сочетание MUC4^{CC} × MUC4^{CC}) позволяет достоверно повысить сохранность поросят за подсосный период, что видно на примере белорусской крупной белой породы, разводимой в условиях РСУП «СГЦ «Заднепровский». Так, при наличии аллеля MUC4^G в генотипе, как матери, так и отца (MUC4^{CG} × MUC4^{CG}), сохранность поросят к отъему достоверно снижалась на 7,0 проц. пункта.

Повышение сохранности потомков родителей желательных генотипов положительно повлияло на количество поросят к отъему, которое оказалось достоверно больше на 0,7 гол. (P<0,05) в сравнении с сочетанием MUC4^{CG} × MUC4^{CG}.

Аналогичная тенденция была отмечена и среди животных данной породы, разводимой в условиях ГПЗ «Порплище», где сохранность молодняка за подсосный период у родителей генотипа $MUC4^{CC}$ выросла на 2,4 проц. пункта по сравнению с сочетанием $MUC4^{GG} \times MUC4^{CC}$ и на 10,5 проц. пункта – по сравнению с сочетанием $MUC4^{GG} \times MUC4^{CG}$.

Таблица 4 – Сохранность поросят-сосунов в зависимости от подбора пар с учетом полиморфизма гена $MUC4$

Генотипы (♀ × ♂)	Количество опоров	Многоплодие, гол.	Количество поросят после выравнивания гнезд, гол.	Количество поросят к отъему, гол.	Сохранность поросят к отъему, %
БКБ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»					
$MUC4^{CC} \times MUC4^{CC}$	19	12,0±0,35	11,5±0,19	10,4±0,22*	90,7±2,07
$MUC4^{CC} \times MUC4^{CG}$	6	12,7±0,49	12,1±0,17	10,6±0,55	87,5±3,57
$MUC4^{CG} \times MUC4^{CC}$	45	12,6±0,27	11,8±0,16	10,2±0,17	86,3±1,36
$MUC4^{CG} \times MUC4^{CG}$	15	12,3±0,53	11,6±0,32	9,7±0,25	83,7±3,07
БКБ, ГПЗ «Порплище»					
$MUC4^{CC} \times MUC4^{CG}$	2	10,5±0,50	10,5±0,50	9,0±0,00	85,9±4,09
$MUC4^{CG} \times MUC4^{CC}$	4	12,5±0,50	12,5±0,50	9,7±0,85	77,8±5,08
$MUC4^{CG} \times MUC4^{CG}$	15	11,0±0,50	10,8±0,44	8,9±0,59	82,6±4,83
$MUC4^{GG} \times MUC4^{CC}$	3	11,7±1,33	11,7±1,33	9,7±1,66	83,5±11,42
$MUC4^{GG} \times MUC4^{CG}$	5	12,2±0,48	12,2±0,48	9,2±0,66	75,4±4,50
В среднем по БКБ					
$MUC4^{CC} \times MUC4^{CC}$	20	11,9±0,36	11,4±0,22	10,3±0,24	90,6±1,97**
$MUC4^{CC} \times MUC4^{CG}$	8	12,1±0,51	11,7±0,31	10,2±0,49	87,1±2,73*
$MUC4^{CG} \times MUC4^{CC}$	49	12,6±0,25	11,8±0,15	10,1±0,17	85,6±1,34*
$MUC4^{CG} \times MUC4^{CG}$	30	11,7±0,38	11,2±0,28	9,3±0,32	83,2±2,81
$MUC4^{GG} \times MUC4^{CC}$	3	11,7±1,33	11,7±1,33	9,7±1,66	83,5±11,42
$MUC4^{GG} \times MUC4^{CG}$	5	12,2±0,48	12,2±0,48	9,2±0,66	75,4±4,50
БМ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»					
$MUC4^{CC} \times MUC4^{CC}$	35	12,1±0,37	11,3±0,22	10,0±0,15	89,5±1,38
$MUC4^{CC} \times MUC4^{CG}$	4	11,5±1,19	11,0±0,91	9,7±0,47	89,5±3,79
$MUC4^{CG} \times MUC4^{CC}$	9	13,0±0,50	12,1±0,26	10,8±0,27	89,2±2,56
БЧП, КУСП «Дуниловичи-Агро»					
$MUC4^{CC} \times MUC4^{CC}$	7	9,9±0,34	9,9±0,34	9,4±0,37	95,7±2,05
$MUC4^{CC} \times MUC4^{CG}$	21	9,6±0,41	9,6±0,41	8,5±0,36	90,7±2,16
$MUC4^{CG} \times MUC4^{CC}$	7	9,3±0,42	9,3±0,42	8,3±0,36	89,5±2,43
$MUC4^{CG} \times MUC4^{CG}$	8	9,4±0,50	9,4±0,50	8,0±0,35	84,4±3,65
$MUC4^{GG} \times MUC4^{CG}$	5	9,8±0,37	9,8±0,37	8,0±0,55	81,5±3,82

В среднем по белорусской крупной белой породе сохранность поросят к отъему (сочетание $MUC4^{CC} \times MUC4^{CC}$) была достоверно выше, чем у сочетания родительских генотипов $MUC4^{GG} \times MUC4^{CG}$ на 15,2 проц. пункта ($P < 0,01$). Повышение концентрации аллеля $MUC4^G$ в сочетании родительских генотипов $MUC4^{GG} \times MUC4^{CG}$ вызвало достоверное снижение сохранности поросят за подсосный период на 11,7 проц. пункта ($P < 0,05$) по сравнению с сочетанием $MUC4^{CC} \times MUC4^{CG}$ и на 10,2 проц. пункта ($P < 0,05$) по сравнению с $MUC4^{CG} \times MUC4^{CC}$.

Заметных различий между сочетаниями генотипов родительских форм в схемах подбора белорусской мясной породы по сохранности поросят выявлено не было, что связано с общей низкой концентрацией аллеля $MUC4^G$ в генотипах исследуемых животных.

В белорусской черно-пестрой породе сочетание родительских генотипов $MUC4^{CC} \times MUC4^{CC}$ позволило повысить сохранность поросят к отъему в сравнении с сочетаниями $MUC4^{CG} \times MUC4^{CG}$ и $MUC4^{GG} \times MUC4^{GG}$ на 11,3 и 14,2 проц. пункта.

Таким образом, в ходе проведенных нами исследований установлена низкая концентрация мутантного аллеля $MUC4^G$ и отсутствие генотипа $MUC4^{GG}$ в популяциях животных белорусской крупной белой и белорусской мясной пород (РСУП «СГЦ «Заднепровский»), которая составила 0,29 и 0,1, соответственно. Более высокая концентрация аллеля $MUC4^G$ выявлена в популяциях животных белорусской крупной белой (ГПЗ «Порплище») и белорусской черно-пестрой (КУСП «Дуниловичи-Агро») пород – 0,40–0,36.

Установлена положительная ассоциация родительского генотипа $MUC4^{CC}$ с сохранностью потомков к отъему. В целом по белорусской крупной белой породе (РСУП «СГЦ «Заднепровский» и ГПЗ «Порплище») свиноматки генотипа $MUC4^{CC}$ имели достоверно более высокую сохранность потомков к отъему в сравнении с матками генотипа $MUC4^{GG}$ на 10,1 проц. пункта ($P < 0,05$). В популяции животных белорусской мясной породы у маток генотипа $MUC4^{CC}$ сохранность поросят к отъему была достоверно выше на 4,4 проц. пункта ($P < 0,05$) в сравнении с матками генотипа $MUC4^{CG}$. У маток белорусской черно-пестрой породы генотипа $MUC4^{CC}$ сохранность потомков к отъему была выше на 8,9 проц. пункта относительно маток генотипа $MUC4^{GG}$. В общем, по белорусской крупной белой породе хряки генотипа $MUC4^{CC}$ превосходили по сохранности потомков к отъему хряков генотипа $MUC4^{CG}$ на 5,6 проц. пункта ($P < 0,01$).

Исходя из вышеизложенного, мы рекомендуем для моделирования селекционного процесса проводить мониторинг генетической структуры популяций материнских и отцовских пород в племенном свиноводстве Республики Беларусь для изучения полиморфизма гена $MUC4$, что позволит элиминировать из селекционного процесса животных с нежелательными аллельными вариантами ($MUC4^{CG}$ и $MUC4^{GG}$). Это в свою очередь будет способствовать повышению сохранности молодняка и, соответственно, эффективности ведения отрасли в целом.

Литература

1. Генофонд скороспелой мясной породы свиней / В. Л. Петухов [и др.]. – Новосибирск: «Юпитер», 2005. – 631 с.
2. Лэсли, Дж. Ф. Генетические основы селекции сельскохозяйственных животных / Дж. Ф. Лэсли; пер. с англ. и предислов. Д. В. Карликова. – Москва: Колос, 1982. – 391 с.
3. Максимович, В. В. Инфекционные болезни свиней / В. В. Максимович. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 373 с.
4. Comparison of the Contributions of Heat-Labile Enterotoxin and Heat-Stable Enterotoxin b to the Virulence of Enterotoxigenic Escherichia coli in F4ac Receptor-Positive Young Pigs / J. Erume [et al.] // Infection and Immunity. – 2008. – Vol. 76, N. 7. – P. 3141–3149.
5. Erik, P. Airway Mucus: Its Components and Function / P. Erik, Lillehoj, K. Chul Kim // Arch. Pharm. Res. – 2002. – Vol. 25, N 6. – P. 770–780.
6. Filistowicz, M. Úvodná štúdia efektu lokusov FUT1 a MUC4 na plodnosť prasníc a úspešnosť odchovu prasiat / M. Filistowicz, S. Jasek // Acta fytotechnica et zootechnica – Mimoriadne číslo. – 2006. – S. 23–26.
7. Inheritance of the F4ab, F4ac and F4ad E. coli receptors in swine and examination of four candidate genes for F4acR / P. Python [et al.] // J. Anim. Breed. Genet. – 2005. – Vol. 122. – Suppl. – P. 5–14.
8. Refined localization of the Escherichia coli F4ab/F4ac receptor locus on pig chromosome 13 / D. Joller [et al.] // Anim. Genet. – 2009. – Vol. 40, N 5. – P. 749–752.
10. The F4 fimbrial antigen of Escherichia coli and its receptors / Van den Broeck [et al.] // Vet. Microbiol. – 2000. – Vol. 71. – P. 223–244.
11. The g.243A>G mutation in intron 17 of MUC4 is significantly associated with susceptibility/resistance to ETEC F4ab/ac infection in pigs / Q. L. Peng [et al.] // Anim. Genet. – 2007. – Vol. 38, N 4. – P. 397–400.