

**АССОЦИАЦИЯ ГЕНА ЭРИТРОПОЭТИНОВОГО РЕЦЕПТОРА
С РЕПРОДУКТИВНЫМИ ПРИЗНАКАМИ СВИНОМАТОК
БЕЛОРУССКОЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ
И БЕЛОРУССКОЙ МЯСНОЙ ПОРОД**

Д.А. Каспирович*, В.А. Дойлидов**

**УО «Полесский государственный университет»*

***УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»*

Введение. Репродуктивные качества свиноматок, в том числе многоплодие, являются одними из наиболее важных экономических показателей в свиноводстве [1], которые свыше 40 последних лет пытаются увеличить с помощью селекционных программ с использованием высокопродуктивных линий свиноматок и методов гибридизации [3].

И все же, прямая селекция свиной на плодовитость характеризуется малой эффективностью из-за низкой наследуемости признака ($h^2=0,1-0,3$) и ограниченного полом [2, 4].

Благодаря развитию молекулярной генетики стало возможным выявлять гены, контролирующие показатели репродуктивных качеств, определять их полиморфизм и использовать в селекции в качестве маркеров воспроизводства [3].

На сегодняшний день в качестве генетического маркера многоплодия свиноматок, рассматривается ген эритропоэтинового рецептора – EPOR, локализованный на 2 хромосоме [7] и ассоциированный с размером матки и, соответственно, размером гнезда при рождении – многоплодием [5].

J.L. Vallet и др. выявлен полиморфизм гена EPOR, который обусловлен точковой мутацией, обнаруженной в интроне 4 (цитозин→тимин), что создает дополнительный участок GATA-1 (аллель T) эритропоэтинового рецептора [6].

По данным J.L. Vallet с соавторами установлено, что наиболее желательным с точки зрения селекции на повышение многоплодия свиноматок является аллель EPOR^T [5].

Таким образом, исходя из вышеизложенного материала и результатов исследований зарубежных ученых, можно сделать заключение о необходимости изучения влияния гена эритропоэтино-

вого рецептора на продуктивность свиноматок, разводимых в Республике Беларусь пород, и использования его в дальнейшем в качестве маркера многоплодия.

Цель работы – изучить полиморфизм гена EPOR у животных исследуемых пород и ассоциацию выявленных генотипов с репродуктивными качествами свиноматок.

Материалы и методика исследований. Исследования проводились на свиноматках, хряках и молодняке свиней белорусской крупной белой (БКБ) и белорусской мясной пород (БМ) в условиях РСУП «СГЦ «Заднепровский» Оршанского района и ГПЗ «Порплище» Докшицкого района Витебской области.

В качестве исходного материала для ДНК-анализа методом ПЦР в режиме реального времени по методике, разработанной в Центре биотехнологии и молекулярной диагностики Всероссийского научно-исследовательского института животноводства Россельхозакадемии, использованы пробы ткани (ушной выщип) свиней.

По результатам ДНК-анализа по средствам общепринятых методов, предложенных Е.К. Меркурьевой, в популяциях подопытных животных исследуемых пород рассчитаны частоты аллелей и генотипов по локусу гена EPOR, а также генетическое равновесие.

Изучена ассоциация генотипов гена EPOR с показателями репродуктивных качеств свиноматок, собственной продуктивностью ремонтных свинок, количественными и качественными показателями спермопродукции и воспроизводительной способностью хряков-производителей.

Результаты исследований. При исследовании ядерной ДНК в геномах свиней исследуемых пород и популяций был выявлен полиморфизм гена EPOR, который обусловлен наличием двух аллелей: EPOR^C – без мутации, EPOR^T – с точковой мутацией. Идентифицированы генотипы: EPOR^{TT}, EPOR^{CT} и EPOR^{CC}.

При изучении генетической структуры популяций на межпородном уровне были выявлены значительные колебания частот встречаемости мутантного аллеля EPOR^T среди животных белорусской крупной белой и белорусской мясной пород (таблица 1).

Таблица 1 – Частоты встречаемости аллелей гена EPOR в популяциях свиней белорусской крупной белой и белорусской мясной пород

Порода	Половозрастные группы	n	Частоты встречаемости аллелей	
			EPOR ^T	EPOR ^C
БМ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»	хряки-производители	30	0,52	0,48
	свиноматки	79	0,56	0,44
В среднем по популяции		109	0,55	0,45
БКБ, ГПЗ «Порплище»	хряки-производители	6	0,33	0,67
	свиноматки	25	0,22	0,78
В среднем по популяции		31	0,24	0,76

Наибольшей частотой встречаемости аллеля EPOR^T характеризовались животные белорусской мясной породы – 0,55, а наименьшей животные белорусской крупной белой породы – 0,24.

Также нами была проведена оценка частоты встречаемости аллеля EPOR^T среди различных половозрастных групп животных популяций исследуемых пород.

Наименьшая концентрация аллеля EPOR^T установлена в популяции животных белорусской крупной белой породы, разводимой в условиях ГПЗ «Порплище» – 0,22 у свиноматок и у хряков белорусской мясной породы – 0,33. В выборке хряков и маток белорусской мясной породы частота встречаемости аллеля EPOR^T составила 0,52–0,56.

Частоты встречаемости генотипов в популяциях свиней исследуемых пород представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Генетическая структура популяций белорусской крупной белой и белорусской мясной пород по гену EPOR

Порода	Половозрастные группы	n	Распределение	Частоты встречаемости генотипов, %			χ^2
				ТТ	СТ	СС	
БМ, РСУП «СГЦ «Заднепровский»	хряки-производители	30	Ф	29,6	44,5	25,9	0,07
			О	27,0	49,9	23,1	
	свиноматки	79	Ф	27,9	56,9	15,2	0,23
			О	31,4	49,3	19,3	
В среднем по популяции		109	Ф	28,6	53,3	18,1	0,64
			О	30,2	49,5	20,3	
БКБ, ПЗ «Порплище»	хряки-производители	6	Ф	-	66,7	33,3	0,15
			О	10,9	44,2	44,9	
	свиноматки	25	Ф	-	44,0	56,0	0,04
			О	4,90	34,3	60,8	
В среднем по популяции		31	Ф	-	48,4	51,6	3,20
			О	55,7	36,5	57,8	

В исследованной группе свиней белорусской мясной породы, около половины животных имели гетерозиготный генотип EPOR^{CT}: хряки-производители – 44,5%, свиноматки – 56,9%, а белорусской крупной белой – 66,7–44%, соответственно.

Среди животных белорусской крупной белой породы гомозиготного генотипа EPOR^{TT} выявлено не было, что согласуется с результатами, полученными российскими учеными по выявлению характера полиморфизма среди свиней крупной белой породы заволжского типа.

Несмотря на преобладание гетерозиготных особей среди исследуемых пород и отсутствие генотипа EPOR^{TT} среди свиней белорусской крупной белой породы генетическое равновесие не было нарушено.

В последующем нами были проведены исследования ассоциации полиморфных вариантов гена EPOR с продуктивностью свиноматок (таблицы 3–4).

Установлено, что свиноматки белорусской мясной породы, несущие в своем генотипе только аллель EPOR^T, достоверно превосходили свиноматок генотипа EPOR^{CC} по количеству живых поросят при рождении на 1,3 гол. (P<0,01), а среди свиноматок генотипов EPOR^{CT} и EPOR^{CC} данная разница составила в 1 гол. (P<0,01), соответственно.

Также наблюдалась тенденция положительного влияния генотипа EPOR^{TT} на такие показатели как: масса гнезда при рождении – она была выше, чем у свиноматок генотипа EPOR^{CC} на 2,1 кг; количество поросят в 21 день – на 0,6 гол. (P<0,05); молочность – на 2,1 кг; количество поросят к отъему – на 0,7 гол.

Таблица 3 – Репродуктивные качества свиноматок популяции белорусской мясной породы (РСУП «СГЦ «Заднепровский») в зависимости от генотипа по гену EPOR

Показатели	Генотипы		
	EPOR ^{TT}	EPOR ^{CT}	EPOR ^{CC}
Количество маток, гол.	14	28	7
Количество опоросов	31	85	17
Родилось поросят всего, гол.	12,8±0,32	12,5±0,20	12,2±0,35
В том числе живых, гол.	12,4±0,29**	12,1±0,18**	11,1±0,28
Количество поросят после выравнивания гнезд, гол.	11,4±0,14	11,3±0,11	11,1±0,28
Масса гнезда при рождении, кг	18,2±0,54	18,0±0,34	16,1±0,79
Масса поросенка при рождении, кг	1,5±0,03	1,5±0,02	1,4±0,05
Количество поросят в 21 день, гол.	10,1±0,12*	10,1±0,09*	9,5±0,24

Молочность, кг	56,5±1,08	54,9±0,72	54,4±1,61
Масса поросенка в 21 день, кг	5,6±0,08	5,5±0,06	5,7±0,12
Количество поросят при отъеме, гол.	10,1±0,12*	10,0±0,09*	9,5±0,22
Масса гнезда при отъеме в 35 дней, кг	94,0±2,05	91,0±1,52	90,3±2,68
Масса поросенка при отъеме, кг	9,3±0,18	9,1±0,13	9,6±0,28
Сохранность поросят, %	88,5±1,35	88,5±0,85	85,6±2,12

Здесь и далее: разница достоверна при * – P<0,05, ** – P<0,01, *** – P<0,001

Сохранность молодняка к отъему у свиноматок гомозиготного генотипа по мутантному аллелю EPOR^T была выше на 2,9 проц. пункта по сравнению со свиноматками генотипа EPOR^{CC}. Положительная динамика анализируемых показателей отмечена и среди свиноматок гетерозиготного генотипа EPOR^{CT}.

Что касается свиноматок белорусской крупной белой породы (таблица 4) гетерозиготного генотипа EPOR^{CT} нами была установлена тенденция по увеличению численности поросят при рождении на 0,7 гол., в том числе живорожденных на 0,6 гол., в сравнении с матками генотипа EPOR^{CC}.

Также установлено, что масса гнезда при рождении, в 21 день и при отъеме у свиноматок гетерозиготного генотипа EPOR^{CT} была выше на 0,6; 0,6 и 4,0 кг, соответственно, а сохранность поросят к отъему – на 2,5 проц. пункта, чем у свиноматок генотипа EPOR^{CC}.

Таблица 4 – Продуктивность свиноматок заводской популяции белорусской крупной белой породы (ГПЗ «Порплище») в зависимости от генотипа по гену EPOR

Показатели	Генотипы	
	EPOR ^{CT}	EPOR ^{CC}
Количество маток, гол.	9	12
Количество опоросов	39	24
Родилось поросят всего, гол.	11,5±0,30	10,8±0,32
В том числе живых, гол.	11,4±0,30	10,8±0,32
Количество поросят после выравнивания гнезд, гол.	11,0±0,20	10,7±0,29
Масса гнезда при рождении, кг	12,2±0,31	11,6±0,31
Масса поросенка при рождении, кг	1,0±0,006	1,0±0,008
Количество поросят в 21 день, гол.	9,6±0,22	9,2±0,30
Молочность, кг	48,2±1,29	47,6±1,73
Масса поросенка в 21 день, кг	5,0±0,09	5,2±0,12
Количество поросят при отъеме, гол.	9,1±0,29	8,5±0,31
Масса гнезда при отъеме в 35 дней, кг	136,8±5,01	132,8±5,74
Масса поросенка при отъеме, кг	15,1±0,33	15,5±0,46
Сохранность поросят, %	82,4±2,21	79,9±2,75

Любой ген, как структурная единица генома, взаимосвязан с множеством других генов и в связи с этим имеет косвенную связь не с одним каким-то фенотипическим проявлением организма, а с комплексом признаков.

В связи с этим, нами был дополнительно проведен анализ ассоциаций генотипов по гену EPOR с рядом продуктивных признаков свиней белорусской крупной белой и белорусской мясной пород, в том числе с показателями собственной продуктивности ремонтных свинок, разводимых в условиях РСУП «СГЦ «Заднепровский». Результаты анализа представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Влияние полиморфизма гена EPOR на собственную продуктивность ремонтных свинок белорусской мясной породы

Генотипы	n	Возраст достижения живой массы 100 кг, дн.	Длина туловища, см	Толщина шпика, мм	Среднесуточный прирост, г
EPOR ^{TT}	18	187±2,3	124,7±0,56	23,2±0,64	531±7,12
EPOR ^{CT}	44	185±1,7	124,4±0,34	23,2±0,35	536±4,84
EPOR ^{CC}	12	189±2,7	123,5±0,87	23,5±0,58	523±7,53

Изучив влияние полиморфизма гена EPOR на признаки, характеризующие продуктивность свинок, мы установили, что гомозиготные (EPOR^{TT}) и гетерозиготные (EPOR^{CT}) особи отличаются более высокими анализируемыми показателями по сравнению с особями генотипа EPOR^{CC}. Так, свинки указанных генотипов достигают живой массы 100 кг на 2–4 дня раньше свинок генотипа EPOR^{CC}, по среднесуточному приросту они имеют превосходство на 8,0–13,0 г, по длине туловища – на 1,2–0,9 см, а толщина шпика у них меньше на 0,3 мм.

Дополнительно нами были проведены исследования по изучению влияния генотипа хряков-производителей белорусской мясной и белорусской крупной белой пород по гену EPOR на многоплодие свиноматок. В данном случае генотип свиноматок по гену эритропоэтинового рецептора не учитывался (таблицы 6–7).

Таблица 6 – Многоплодие свиноматок белорусской мясной породы, осемененных спермой хряков-производителей различных генотипов по гену EPOR

Показатели	Генотипы хряков		
	EPOR ^{TT}	EPOR ^{CT}	EPOR ^{CC}
Количество хряков, гол.	7	10	7
Количество опоросов	38	35	28
Родилось поросят всего, гол.	11,6±0,38	11,5±0,36	11,4±0,43
В том числе живых, гол.	11,1±0,39	10,7±0,35	11,1±0,42
Крупноплодность, кг	1,5±0,05	1,6±0,04	1,5±0,04
Масса гнезда при рождении, кг	16,6±0,70	17,1±0,69	16,6±0,64

Как и ожидалось, генотипы хряков-производителей белорусской мясной породы по эритропоэтиновому рецептору не оказывали достоверного влияния на многоплодие свиноматок, массу поросят и массу гнезда при рождении.

Таблица 7 – Многоплодие свиноматок белорусской крупной белой породы, осемененных спермой хряков-производителей различных генотипов по гену EPOR

Показатели	Генотипы хряков	
	EPOR ^{CT}	EPOR ^{CC}
Количество хряков, гол.	3	1
Количество опоросов	22	3
Родилось поросят всего, гол.	12,1±0,47	11,3±1,45
В том числе живых, гол.	12,1±0,47	11,3±1,45
Крупноплодность, кг	1,07±0,007	1,09±0,01
Масса гнезда при рождении, кг	12,9±0,45	12,3±1,45

Как и на примере белорусской мясной породы, полиморфизм гена EPOR у хряков-производителей белорусской крупной белой породы не оказывал заметного влияния на анализиру-

емые показатели репродуктивных качеств свиноматок, которые находились на одном уровне, независимо от генотипа хряков, спермой которых они были осеменены.

В ходе дальнейших исследований, нами было учтено качество спермопродукции, полученной от хряков-производителей белорусской мясной породы с учетом их генотипа (таблица 8).

Таблица 8 – Влияние полиморфизма гена EPOR на качество спермопродукции хряков-производителей белорусской мясной породы

Показатели	Генотипы хряков		
	EPOR ^{TT}	EPOR ^{CT}	EPOR ^{CC}
Количество животных, гол.	8	12	7
Объем эякулята, мл	172,2±20,82	177,9±10,05	189,7±13,09
Густота спермы, баллы	8,0±0,02	7,9±0,09	8,0±0,02
Концентрация спермиев, млн./мл	335,7±3,94	333,7±2,34	335,5±2,78
Выживаемость спермиев, час.	178,8±5,89	169,7±9,96	188,0±5,85

Установлено, что хряки-производители генотипа EPOR^{CC} по объему эякулята превосходили хряков-производителей генотипов EPOR^{CT} и EPOR^{TT} на 11,8 и 17,5 мл, по выживаемости спермиев на 18,3 и 9,2 часов.

В то же время, хряки-производители генотипа EPOR^{TT} имели несколько большую концентрацию спермиев в 1 мл по сравнению с хряками генотипа EPOR^{CC} – на 200 тыс. спермиев в 1 мл эякулята. Достоверных различий не установлено.

Была также изучена степень влияния аллельных вариантов гена EPOR на воспроизводительную способность хряков-производителей белорусской мясной породы, разводимой в РСУП «СГЦ «Заднепровский» (таблица 9).

Таблица 9 – Влияние полиморфизма гена EPOR на воспроизводительную способность хряков-производителей белорусской мясной породы

Показатели	Генотипы хряков		
	EPOR ^{TT}	EPOR ^{CT}	EPOR ^{CC}
Осеменено маток, гол.	347	484	291
% выбытия супоросных маток	0,3±0,26	1,4±0,45	1,0±0,70
% абортировавших маток	4,7±1,02	5,8±1,04	3,9±1,21
% опоросившихся маток	84,4±1,97	83,0±2,29	84,3±3,25
Оплодотворяемость, %	89,4±1,07	90,2±1,56	89,2±2,62

Выявлено, что по воспроизводительной способности хряки-производители генотипов EPOR^{TT} и EPOR^{CT} незначительно превосходили хряков генотипа EPOR^{CC} на 0,2 и 1 проц. пункт.

В целом же достоверных различий между хряками разных генотипов по качеству спермопродукции и оплодотворяющей способности не выявлено.

Исходя из результатов проведенных исследований, нами предложен селекционный прием повышения репродуктивных качеств свиноматок, основанный на использовании в схемах подбора родительских форм с желательным генотипом (рисунок).

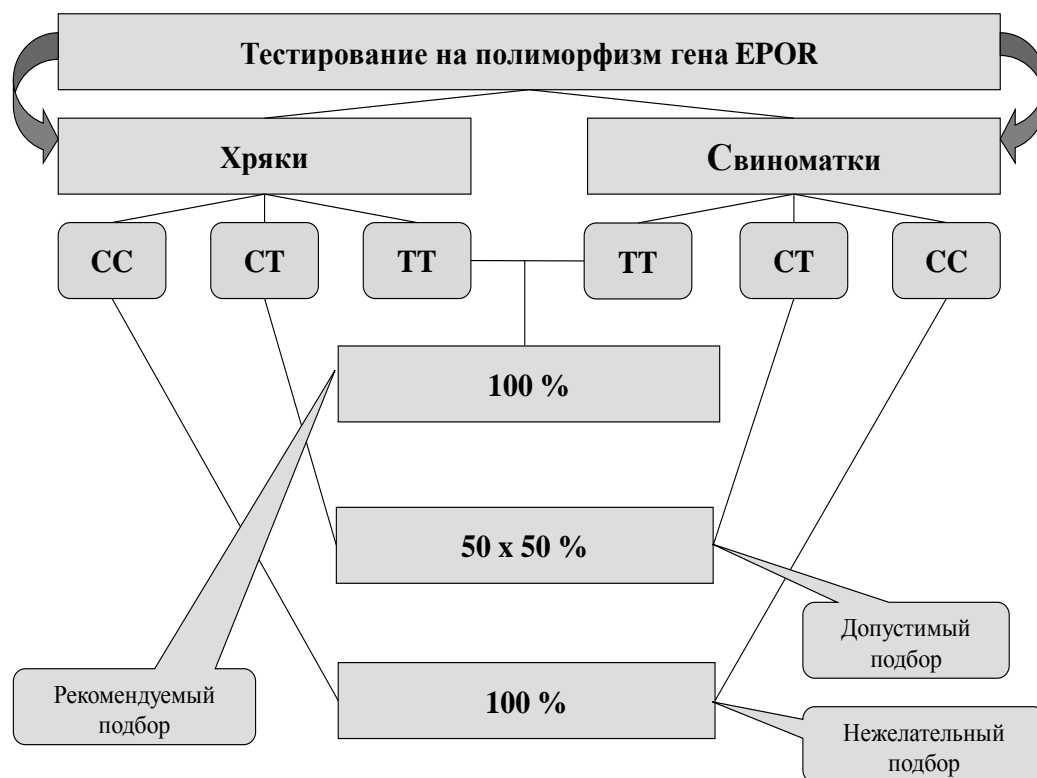


Рисунок – Селекционный прием повышения многоплодия путем использования в схемах подбора свиней желательных генотипов по гену EPOR

Селекционный прием осуществляется следующим образом: в ходе анализа полиморфизма гена EPOR у животных основного стада и у ремонтного молодняка определяются генотипы (EPOR^{CC}; EPOR^{CT}; EPOR^{TT}). На основании анализа полиморфизма гена производится отбор ремонтного молодняка, хряков и свиноматок с предпочтительными генотипами. Эти животные используются в селекционной программе по повышению многоплодия и являются резервной (ведущей) частью популяций с последующим активным использованием в разведении.

Таким образом, установлено, что наибольшей частотой встречаемости мутантного аллеля EPOR^T и гомозиготного генотипа EPOR^{TT} по гену эритропоэтинового рецептора характеризовались свиноматки и хряки-производители белорусской мясной породы в РСУП «СГЦ «Заднепровский» – 0,56–0,52 и 27,9–29,6 %.

Определено, что лучшими генотипами свиноматок по гену EPOR в плане повышения многоплодия и сохранности поросят к отъему являются генотипы EPOR^{CT} и EPOR^{TT}. В СГЦ «Заднепровский» свиноматки белорусской мясной породы генотипа EPOR^{CC} достоверно уступали животным с генотипами EPOR^{CT} и EPOR^{TT} по многоплодию на 1–1,3 гол. Разница по многоплодию между генотипами EPOR^{CT} и EPOR^{CC} у свиноматок белорусской крупной белой породы в племенном заводе «Порплище» составила 0,6 гол. Выявлено положительное влияние аллеля EPOR^T в генотипе свиноматок на сохранность поросят к отъему. Количество поросят при отъеме у маток белорусской мясной породы генотипов EPOR^{TT} и EPOR^{CT} было достоверно выше на 0,6–0,5 гол. в сравнении с генотипом EPOR^{CC}, у свиноматок белорусской крупной белой породы данная разница между генотипами EPOR^{CT} и EPOR^{CC} составила 0,6 гол.

Литература

1. Ассоциация гена эстрогенового рецептора с репродуктивными признаками свиноматок белорусской мясной и крупной белой пород / И.П. Шейко [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр. / Институт животноводства НАН Беларуси. – Жодино, 2006. – Т. 41. – С. 103–109.

2. Лобан, Н.А. Применение методов молекулярной генной диагностики в свиноводстве Беларуси / Н.А. Лобан, О.Я. Василюк, Р.И. Шейко // Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр. / Ин-т животноводства НАН Беларуси; И. П. Шейко [и др.]. – Жодино, 2004. – Т. 39. – С. 82–86.

3. Рыжова, Н.В. Полиморфизм генов эстрогенового и пролактинового рецепторов в популяции свиней крупной белой породы / Н.В. Рыжова, Л.А. Калашникова, Е.А. Черкаева // Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр. / Ин-т животноводства НАН Беларуси; редкол.: И.П. Шейко [и др.]. – Жодино, 2004. – Т. 39. – С. 110–115.

4. Шейко, И.П. Разработка методов молекулярной генной диагностики и их использование в свиноводстве Беларуси / И.П. Шейко, Н.А. Лобан, О.Я. Василюк // Вести Национальной академии наук Беларуси. Серия аграрных наук. / Национальная академия наук Беларуси. – Минск. – 2005. – № 1. – С. 62–66.

5. A Polymorphism in the Pig Erythropoietin Receptor (Epor) gene is associated with Uterine Capacity / J.L. Vallet [et al.] // J. Anim. Sci. – 2003. – Vol. 81. – N. 2. – P. 1029–1033.

6. Allelic variation in the erythropoietin receptor gene is associated with uterine capacity and litter size in swine / J.L. Vallet [et al.] // Anim. Genet. – 2005. – Vol. 36. – P. 97–103.

7. Physical assignment of the porcine erythropoietin receptor gene to SSC2 / S.C. Fahrenkrug [et al.] // Animal Genetics. – 2000. – Vol. 31. – P. 69–70.