

УДК 636.2.034.082.2:575.22(477)

ПРОГНОЗУВАННЯ БАГАТОПЛІДНОСТІ СВИНЕЙ ЗА ДОПОМОГОЮ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ТА ДНК-МАРКЕРІВ

*Костенко С.О. – к. б. н., доцент,
Драгулян М.В. – аспірант, НУБіП України*

Постановка проблеми. На сьогодні у зв'язку з постійно зростаючим попитом на м'ясну продукцію інтенсифікація селекційних процесів у свинарстві вимагає використання якісно нових підходів до маркерів, за якими відбирається племінний молодняк [1].

Стан вивчення проблеми. Крім оцінки тварин за фенотипом, існують методи виявлення цитогенетичної стабільності, що базуються на оцінці рівня соматичного мутагенезу та дослідженні каріотипу з метою встановлення його конститутивних порушень. Так, було виявлено зв'язок стабільності каріотипу з багатоплідністю свиноматок [2].

У той же час відомо, що на відтворні якості впливає поліморфізм цілого комплексу генів [3]. Кількість відомих QTL, пов'язаних із репродуктивними якостями свиней, постійно зростає і вже майже сягає 300 [4].

Завдання і методика досліджень. Метою нашої роботи була розробка способу комплексної оцінки відтворної здатності свиней. Для досягнення мети ми використовували як цитогенетичні, так і молекулярно генетичні маркери (однонуклеотидний поліморфізм генів рецептора фолікулостимулюючого гормону (*FSHR*), коактиватора ядерних рецепторів стероїдних гормонів (*NCOA1*), рецептора естрогену (*ESR*), рецептора пролактину (*PRLR*) [5-10].

Досліджували свиноматок уельської (n=52) та української м'ясної (n=40) порід ДПДГ «Гонтарівка» Харківської області Вовчанського району. Усі досліджені тварини утримувались в умовах, які відповідають ветеринарно-санітарним нормам. Цитогенетичний аналіз крові свиней здійснювали згідно з Інструкцією з проведення цитогенетичного контролю племінних тварин [11]. Аналіз проводили на пофарбованих за методом Гімза препаратах хромосом збільшенням x 1000. При аналізі враховували рівень клітин з мікрояздрами (МЯ).

Для рестриктного гідролізу ампліфікованих фрагментів використовували ферменти рестрикції *Rsa I* для гену *NCOA1*, *PVu II*, для гену *ESR* та *Alu I* для гену *PRLR*. Ген *FSHR* генотипували методом Bi-Passa без додавання рестриктахи. Зразки інкубували протягом 12-16 годин при 37°C (або близько 3 годин, додавши в два рази більше ферменту). По закінченню проводили електрофоретичний аналіз продуктів рестрикції.

Під час ДНК-ідентифікації свиней за геном *FSHR* генотип *CC* має такі рестрикційні розміри 674 та 280п.н., *CT* – 674, 442 та 280п.н., *TT* – 674, 442п.н. Під час ДНК-ідентифікації свиней за геном *NCOA1* після обробки рестриктазою *Rsa I*, генотип *A1A1* характеризується наявністю продуктів розмірами 440п.н., *A1A2* – 440, 282 та 158п.н., *A2A2* - 282 та 158 п.н. відповідно. Під час ДНК-ідентифікації свиней за геном *ESR* після обробки рестриктазою *Pvu II*, генотип *AA* дає фрагмент розміром 120п.н., *AB*-120 і 55п.н., а генотип *BB* –

55 п.н., відповідно. Рестриктаза *Alu I* за геном *PRLR* ріже генотип на наступні фрагменти розміром *AA* – 85, 59 та 19 п.н., *AB* – 104, 85, 59 та 19 п.н., *BB* – 104 та 59 п.н.

Результати дослідження. Виявлено частоти алелей та генотипів генів *FSHR*, *NCOA1*, *ESR*, та *PRLR* у тварин української м'ясої та уельської порід.

Частота тварин з бажаним генотипом *CC* гена *FSHR* склала 56% в української м'ясої породи та 57% в уельської породи. На долю тварин з бажаним генотипом *A1A1* гена *NCOA1* припадає 75% свиноматок уельської породи та 46% свиноматок української м'ясої породи. Частота бажаного алеля *B* та генотипу *BB* гену *ESR* у свиноматок уельської породи становила 40% та 2% відповідно, у свиноматок української м'ясої породи становила 48% та 10% відповідно. Частота бажаного алеля *A* та генотипу *AA* гену *PRLR* у свиноматок уельської породи становила 53,1% та 34,4% відповідно, у свиноматок української м'ясої породи становила 58,06% та 51,6% відповідно.

Встановлено достовірну перевагу свиноматок з бажаними та проміжними генотипами по чотирьох генах (*FSHR/NCOA1/ ESR/PRLR*) над тваринами з генотипами *TT/A2A2/AA/BB* (*FSHR/NCOA1/ ESR/PRLR*) на 0,9 голів по багатоплідності, 0,63 голів по показниках народження живих поросят та 0,25 голів по показниках поросят при відлученні.

Виявлено перевагу свиноматок уельської та української м'ясої порід з генотипами *CC* над генотипом *TT* гену *FSHR* по багатоплідності на 0,3 та 1,3 поросяти при опоросі відповідно.

Встановлено перевагу свиноматок української м'ясої та уельської порід генотипу *A1A1* над тваринами з генотипом *A2A2* по багатоплідності на 0,7 та 0,4 поросяти в опоросі відповідно.

Аналіз даних по багатоплідності свиноматок уельської та української м'ясої порід при першому опоросі виявив перевагу тварин з генотипом *BB* над свинями з генотипом *AA* по гену *ESR* на 0,9 та 1,0 поросяти відповідно.

Виявлено перевагу свиноматок уельської та української м'ясої порід з генотипами *AA* над генотипом *BB* гену *PRLR* по багатоплідності на 1,0 та 0,5 поросяти в опоросі відповідно.

Нами проведено цитогенетичне дослідження. При збільшенні мікроядер (МЯ) у тварин з бажаним та проміжним генотипом відмічалося зменшення багатоплідності з кореляцією $r = -0,30$ та зменшувався відсоток збереженості потомства з кореляцією $r = -0,48$ ($0,99 > P > 0,95$).

Для розробки селекційної стратегії нами пропонується побудова маркерних профілів свиней, в яких відображені генотипи тварин за цитогенетичними та ДНК-маркерами. При врахуванні цитогенетичних показників відбирались свиноматки зі стабільним геномом та без хромосомних мутацій.

При збільшенні рівня МЯ у свиноматок уельської породи з бажаним та проміжними генотипами відмічалось зменшення багатоплідності зі слабкою зворотною кореляцією $r = -0,30$ та відсотка збереженості потомства зі слабкою зворотною кореляцією $r = -0,29$ ($0,999 > P > 0,99$).

У свиноматок української м'ясої породи з бажаним та проміжним генотипами при збільшенні МЯ зменшувався відсоток збереженості потомства з середньою зворотною кореляцією $r = -0,40$ ($0,999 > P > 0,99$).

Для встановлення зв'язку кількості клітин із мікроядрами з багатоплідністю та збереженістю потомства у свиноматок небажаного генотипу уельської та української м'ясної породи нами було побудовано маркерний профіль.

У свиноматок уельської породи з небажаними генотипами спостерігався зв'язок рівня МЯ з показниками продуктивності, що виявлявся у зменшенні збереженості потомства при збільшенні кількості клітин з МЯ з середньою зворотною кореляцією $r = -0,56$ ($0,999 > P > 0,99$). При збільшенні МЯ у свиноматок української м'ясної породи з небажаними генотипами відмічалося зменшення багатоплідності зі слабкою зворотною кореляцією $r = -0,28$ ($0,999 > P > 0,99$) та зменшувався відсоток збереженості потомства з середньою зворотною кореляцією $r = -0,46$ ($0,999 > P > 0,99$).

Виявлена нами достовірна кореляція між показниками продуктивності та рівнем МЯ тварин свідчить про те, що тварин слід відбирати не тільки на основі ДНК-маркерів, але слід ще враховувати стабільність геному свиней. Також з наших досліджень можна зробити висновок, що більш стабільний геном спостерігався у тварин з бажаними та проміжними генотипами по генах *FSHR/NCOA1/ ESR/PRLR*.

Кількість тварин для подальшого використання скорочується зі збільшенням кількості маркерів, що використовуються для відбору. Так, наприклад, із 52 свиноматок уельської породи 47 тварин, що використовується з бажаним та проміжним генотипами по *FSHR*, якщо враховувати ген *NCOA1*, то їхня кількість зменшується до 35 по врахуванні чотирьох генів можна використовувати тільки 15 тварин, що складає 31,91%, а в української м'ясної серед 40 свиноматок використовується за бажаним та проміжним генотипами по *FSHR* 35 тварин, а якщо враховувати всі чотири гени – тільки 17 (48,57%).

Результати порівняльної динаміки маркерної селекції свиноматок схематично представлені нами на рис. 1.

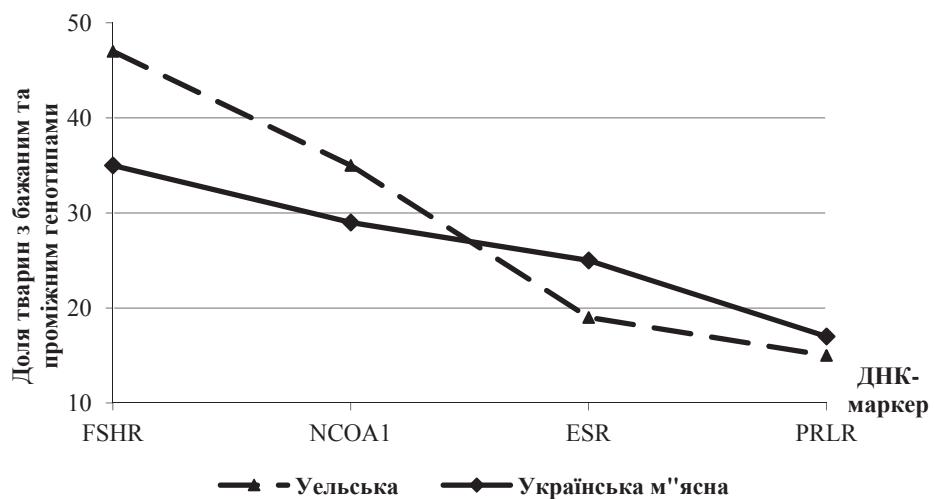


Рис. 1. Порівняльна динаміка маркерної селекції свиноматок зі стабільним геном за бажаним та проміжним генотипом по комплексу генів *FSHR/NCOA1/ ESR/PRLR*

Таким чином, результати аналізу підтверджують ефективність використання комплексних генетичних маркерних досліджень для визначення та прогнозування тварин із бажаними генотипами та стабільним геномом, що підвищить багатоплідність свиней.

Висновки та пропозиції. Виявлено частоти алелей та генотипів генів *FSHR*, *NCOA1*, *ESR*, та *PRLR* у тварин української м'ясої та уельської порід. Встановлено перевагу свиноматок української м'ясої та уельської порід певних генотипів над їх аналогами. Проведено цитогенетичне тестування свиноматок та виявлено, що при збільшенні мікроядер у тварин із бажаним та проміжним генотипом відмічалось зменшення багатоплідності з кореляцією $r = -0,30$ та зменшувався відсоток збереженості потомства з кореляцією $r = -0,48$ ($0,99 > P > 0,95$).

Для розробки селекційної стратегії нами пропонується побудова маркерних профілей свиней, в яких відображені генотипи тварин за цитогенетичними та ДНК-маркерами.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження слід спрямовувати на виявлення закономірностей формування продуктивних якостей свиноматок і кнурів різних порід залежно від їх генотипів та показників цитогенетичної мінливості.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Метлицька О.І. Генетико-селекційні аспекти прогнозування племінної цінності кнурів / О.І.Метлицька, В.М. Гиря // ВІСНИК Полтавської державної аграрної академії.- № 2. - 2011.- С. 87-91.
2. Дзіцюк В. В. Хромосомний поліморфізм локальних порід сільськогосподарських тварин України / Дзіцюк В.В. // Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2011. – № 160. – С. 300-303.
3. Гладырь Е.А. Изучение генома свиней (*Sus scrofa*) с использованием ДНК маркеров / Е.А.Гладырь, Л.К.Эрнст, О.В.Костюнина // Сельскохозяйственная биология. – 2009. – № 2. – С. 16 – 30.
4. Всесвітня мережа Інтернет <http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>
5. Епишко О.А. Гены, детерминирующие воспроизводительную функцию свиноматок / О.А. Епишко // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі – 2008. – № 2. – С. 81 – 85.
6. Епишко О.А. Полигенный характер детерминации репродуктивных признаков свиней мясной породы /О.А. Епишко, Т.И. Епишко, Л.А. Калашникова // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2009. – № 2. – С. 42 – 44.
7. Зиновьева Н.А. Оценка животных по генетическим маркерам / Н.А.Зиновьева, К.М.Шавырина, В.А.Адаменко, Ю.М. Енин, Н.Д. Гуденко // Промышленное и племенное свиноводство. – 2005. - №2. – С. 18-20.
8. Коновал О.М. Ідентифікація алельних варіантів генів *ESR* та *MC4R*, які впливають на господарсько-корисні ознаки свині свійської *Sus scrofa*, L./ О.М.Коновал, С.О.Костенко, В.Г.Спирідонов, С.Д.Мельничук // К.: Видавничий центр НУБіП України. – 2008. – 24 с.

9. Jiang By Z. A missense mutation in the follicle stimulating hormone receptor (FSHR) gene shows different allele effects on litter size in Chinese Erhualian and German Landrace pigs / By Z. Jiang, O. J. Rottmann, O. Krebs, J. Chen, H. Liu and F. Pirchner. // Anim. Breed. Genet. – 2002. - №119. – P. 335 – 341.
10. Humpolicek P. Effect of estrogen receptor, follicle stimulatinghormone and myogenin genes on the performanceof Large White sows / P. Humpolicek, [et al.] // Czech J. Anim. Sci. – 2007.- Vol. 52, № 10. – P. 334 – 340.
11. Melville J.S. A meishan positive QTL for prolificacy trails found at the NCOA1 locus on SSC3 / J.S. Melville, A.M.V. Gibbins1, J.A.B. Robinson1, J.P. Gibson at al. // 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23. – 2002. – C. 15-30.
12. Mariscal, D. V. Comparison of circulating concentrations of reproductive hormones in boars of lines selected for size of testes or number of ovulations and embryonal survival to concentrations in respective control lines /D.V. Mariscal, , P. L. Wolfe, E. G. Bergfeld, A. S. Cupp, F. N. Kojima, K. E. Fike, T. Sanchez, M. E. Wehrman, R. K. Johnson, R. J. Kittok, J. J. Ford, and J. E. Kinder // Anim. Sci. – 1996. - №74. – P.1905-1914.
13. Шельов А.В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин / А. Шельов, В. Дзіюк. - К. : Аграрна наука, 2005.-240с. - (Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології).

УДК 636.3.082

ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ НОВОСТВОРЕНОЇ АСКАНІЙСЬКОЇ КАРАКУЛЬСЬКОЇ ПОРОДИ ОВЕЦЬ

*Кудрік Н.А. - к. с.-г. н., Інститут тваринництва
степових районів імені М.Ф. Іванова “Асканія-Нова” –
Національний науковий селекційно-генетичний центр
з вівчарства*

Постановка проблеми. Каракулівництво є важливою складовою вівчарства, яка постачає сировину для легкої промисловості (шкурки, овчини, вовну) і повноцінні продукти харчування для населення (молоко і продукти з нього та м'ясо).

Досвід країн із розвинутим каракульським вівчарством показує, що забезпечення рентабельності та конкурентоздатності галузі можливе за умов використання високопродуктивних генотипів, комплексного підходу щодо виробництва різноманітної продукції та зниження витрат на її одержання [1, 2, 3, 4].

Стан вивчення проблеми. Успішному розвитку смушкового вівчарства в Україні на новій якісній основі сприяє наявність високоцінного генофонду – асканійської каракульської породи, яка була апробована і затверджена наказом Мінагрополітики України № 176/36 від 18 березня 2009 року.