

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 636.4.082

ВЛИЯНИЕ ОТЦОВСКОГО ГЕНОТИПА ПО ЛОКУСУ ГЕНА MUC4 НА СОХРАННОСТЬ МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ

Д.А. КАСПИРОВИЧ¹, Т.Л. ЛЕБЕДЬ¹, В.А. ДОЙЛИДОВ²

¹Полесский государственный университет,

г. Пинск, Республика Беларусь

²Витебская государственная академия ветеринарной медицины,

г. Витебск, Республика Беларусь

Введение. В селекционную работу в животноводстве, в том числе в свиноводстве, продолжают активно внедряться достижения молекулярной генетики, в частности методы молекулярной генной диагностики, которые позволяют выявлять животных с предпочтительными генотипами в плане повышения основных селекционируемых признаков. Оценка по истинному генетическому потенциалу позволяет проводить селекционную оценку в раннем возрасте. При этом отпадает необходимость в учете изменчивости признаков, которые обусловлены внешней средой.

Известно, что повышение показателей продуктивности должно сопровождаться отбором животных, генетически устойчивых к заболеваниям, так как в противном случае велика вероятность больших экономических потерь от падежа и использования переболевших животных [2].

В свиноводстве Беларуси до сих пор имеет место проблема, связанная с колибактериозом. Это заболевание является одной из причин снижения продуктивности (например, скорости роста молодняка до 30%) и преждевременного выбытия молодняка свиней (заболеваемость достигает 90%, а летальность – 40%). Это заболевание вызывают различные патогенные штаммы *E. coli*, в том числе – *E. coli* с типом фибрий F4 (K 88). Она способна прикрепляться к рецепторам гликопротеина на слизистой кишечника новорожденных поросят с последующим выделением энтеротоксинов. Это в свою очередь приводит к обезвоживанию организма и высокой смертности молодняка в первые недели жизни [3].

Лечить и профилактировать это заболевание сложно в силу широкой вариабельности свойств и множественной устойчивости возбудителя к различным антибактериальным препаратам. Сдерживающим фактором также является недостаточная изученность молекулярно-генетических структур эшерихий, которые ответственны за их патогенные и иммуногенные свойства.

В связи с этим имеет место острая необходимость в дальнейшем совершенствовании специфической профилактики колибактериоза посредством проведения 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). Один из полиморфизмов этого гена MUC4: NhaI-полиморфизм в интроне 17, представляющий собой одиночную замену А→G в позиции 243, зарубежные исследователи рекомендовали в качестве возможного маркера устойчивости к неонатальной колидиарее поросят. Ими было установлено, что животные генотипов MUC4^{AA} и MUC4^{AG} чувствительны к ЕТЕС, а животные генотипа MUC4^{GG} – устойчивы [1, 6, 8, 10].

Практический интерес представляет и полиморфизм гена MUC4 в интроне 7, который также обуславливает предрасположенность животных к ЕТЕС. При этом животные генотипов MUC4^{GG} и MUC4^{CG} чувствительны к ЕТЕС, а животные генотипа MUC4^{CC} – устойчивы [4, 5, 7, 9].

Надо отметить, что датская селекционная программа промышленного свиноводства предусматривает обязательный мониторинг племенных животных на полиморфизм гена MUC4 в целях создания устойчивых стад к *E. coli* F4 (ЕТЕС) [9].

С целью создания конкурентноспособных экспортируемых свиней пород белорусской селекции и выхода на европейские стандарты необходимо проводить мониторинг племенных животных на полиморфизм гена MUC4.

Цель работы – изучение полиморфизма популяций хряков–производителей отечественных и зарубежных пород по гену MUC4 в интронах 7 и 17, а также влияния разных отцовских генотипов по данному гену в 17 интроне на сохранность поросят–сосунов.

Методика и объекты исследования. Работа выполнялась в рамках договора № Б13М–173 от 16.04.2013 г., заключенного с белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований.

Объект исследований – хряки–производители пород отечественной селекции (белорусская крупная белая, белорусская мясная), а также западных пород (ландрас, дюрок) и помесные хряки белорусская мясная×ландрас.

В качестве биологического материала для проведения ДНК–анализа использован эякулят и ушные выщипы от животных, разводимых в СГЦ «Западный» Брестского района, СГЦ «Заднепровский» Оршанского района и КУСП «Дуниловичи–Агро» Глубокского района Витебской области.

Из биологического материала перхлоратным методом выделялась ДНК для последующего генетического анализа. Предварительно были оптимизированы тест–системы для выявления полиморфных вариантов гена MUC4 методом ПЦР–ПДРФ на базе НИЛ лонгитудинальных исследований УО «Полесский государственный университет» и ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси».

По результатам ДНК–анализа была изучена генетическая структура популяций хряков–производителей исследуемых пород, в частности рассчитаны частоты встречаемости аллелей и генотипов. Также изучена ассоциация отцовских генотипов по локусу гена MUC4 (in 17) с сохранностью потомков.

Частоты аллелей и генотипов по гену ECR F18 / FUT1 рассчитаны общепринятыми методами, предложенными Е. К. Меркурьевой.

Частоту аллелей рассчитывали по формуле:

$$p \text{ или } q = F/2N,$$

F – число аллеля в популяции;

N – число животных;

p и q – частоты альтернативных аллелей.

Долю гомо– и гетерозиготных животных выявляли путем подсчета числа животных с тем или другим генотипом от общего числа исследованных животных в процентах.

Сохранность молодняка рассчитывалась с учетом технологических норм выравнивания гнезд, принятых на свиноводческих предприятиях, согласно которым в многоплодных гнездах оставляют по 12–13 поросят. При расчетах не учитывались гнезда с аварийными опоросами и гнезда, в которых осуществлялась подсадка поросят.

Обработка цифрового материала проводилась путем биометрического анализа с последующим расчетом таких показателей, как средняя арифметическая величина признака (M), ошибка средней арифметической ($\pm m$), критерий достоверности разницы между средними арифметическими значениями сравниваемых групп по определенным признакам (td).

В анализе помимо данных собственных исследований использовались данные материалов зоотехнического и племенного учета хозяйства.

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

Результаты и их обсуждение. По результатам ДНК–анализа по локусу гена MUC4 в интронах 17 и 7 была изучена генетическая структура популяций хряков–производителей отечественных и западных пород. В частности были рассчитаны частоты встречаемости аллелей гена MUC4 по 17 интрону животных, разводимых на базе СГЦ «Западный». Результаты представлены на рисунке 1.

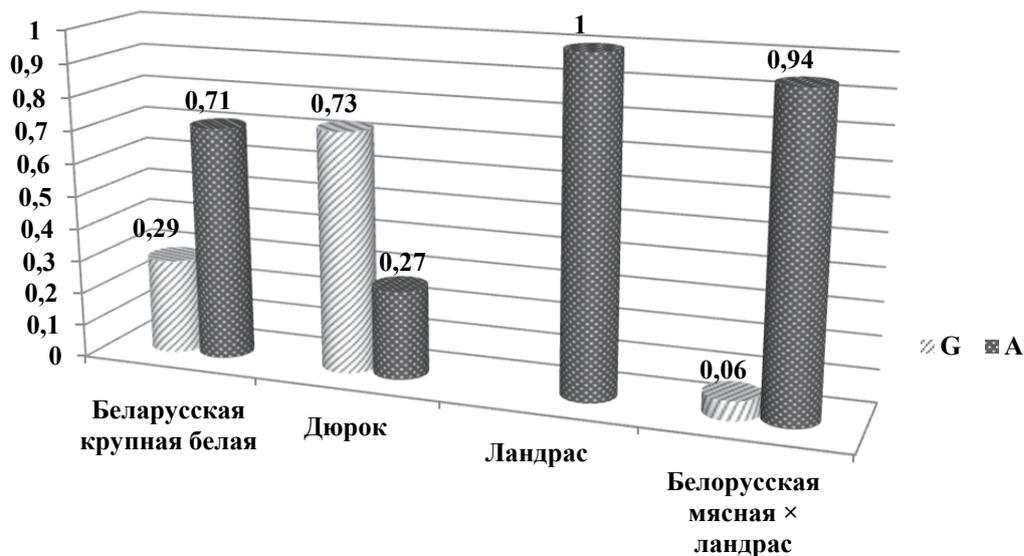


Рисунок 1 – Частоты встречаемости аллелей гена MUC4 (интрон 17) в популяциях хряков отечественной и западной селекции

На межпородном уровне наивысшая частота встречаемости аллеля MUC4^A была установлена у животных породы ландрас – 1. Высокая частота встречаемости данного аллеля также была характерна для помесных хряков–производителей (белорусская мясная×ландрас) – 0,94 и хряков белорусской крупной белой породы – 0,71. У животных породы дюрок аллель MUC4^A встречался заметно реже – 0,27.

Далее нами были рассчитаны частоты встречаемости аллелей гена MUC4 по интрону 7 в популяциях хряков отечественных пород, разводимых в СГЦ «Заднепровский». Полученные результаты представлены на рисунке 2.

Наибольшая частота встречаемости мутантного аллеля MUC4^G была отмечена у животных белорусской черно–пестрой породы – 0,33, низкая у животных белорусской крупной белой и белорусской мясной пород – 0,16 и 0,09 соответственно.

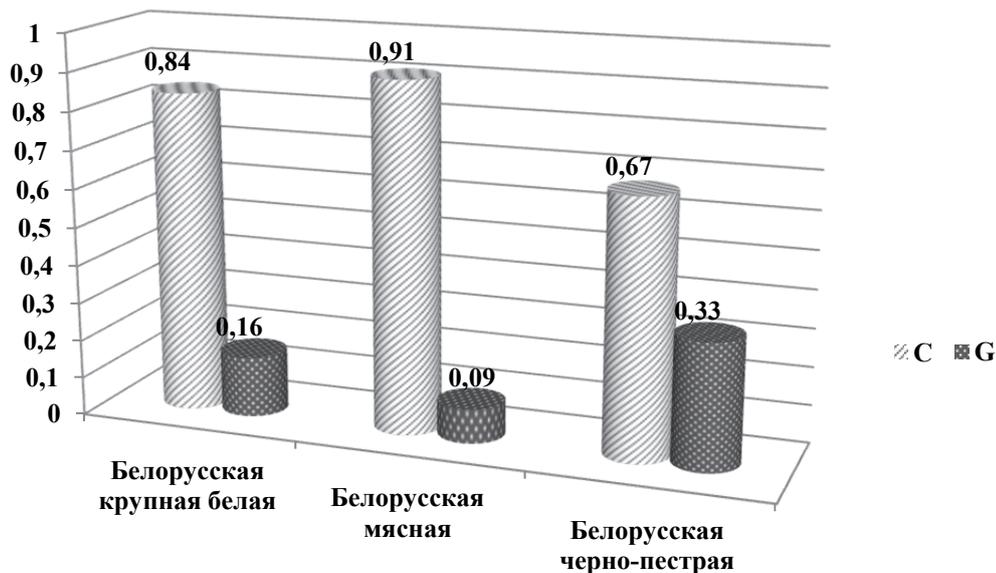


Рисунок 2 – Частоты встречаемости аллелей гена MUC4 (интрон 7) в популяциях хряков отечественной селекции

Далее мы рассчитали частоты встречаемости генотипов по гену MUC4 в интронах 17 и 7 в исследуемых популяциях хряков–производителей (таблицы 1–2).

Таблица 1 – Генетическая структура популяций хряков по локусу гена MUC4 (in 17)

Породы	n	Частоты генотипов, %		
		AA	AG	GG
Белорусская крупная белая	23	60,0	35,0	5,0
Дюрок	22	59,1	27,3	13,6
Ландрас	12	100	–	–
Белорусская мясная × ландрас	8	87,5	12,5	–

Как видно из данных таблицы 1, среди хряков–производителей, разводимых в СГЦ «Западный», практически все исследуемые породы отличались высокой частотой встречаемости генотипа MUC4^{AA}: ландрас – 100%, белорусская крупная белая порода – 60,0%, дюрок – 59,1%. Высокая частота встречаемости генотипа MUC4^{AA} была отмечена и у помесных животных сочетания белорусская мясная×ландрас – 87,5%.

Гомозиготный генотип MUC4^{GG} был выявлен лишь у хряков пород белорусская крупная белая и дюрок – 5,0 и 13,6% соответственно.

На долю генотипа MUC4^{AG} приходился небольшой удельный вес – от 12,5% у помесных животных до 27,3% у хряков–производителей породы дюрок.

Таблица 2 – Генетическая структура популяций хряков белорусской селекции по локусу гена MUC4 (in 7)

Породы	n	Частоты генотипов, %		
		CC	CG	GG
Белорусская крупная белая	44	68,2	31,8	–
Белорусская мясная	28	82,2	17,8	–
Белорусская черно–пестрая	6	33,3	66,7	–

Данные таблицы 2 показывают, что среди животных пород отечественной селекции, разводимых в СГЦ «Заднепровский» и КУСП «Дуниловичи–Агро», генотипов GG выявлено не было.

Установлена высокая частота встречаемости генотипа MUC4^{CC} у хряков–производителей белорусской мясной и белорусской крупной белой породы, разводимых в СГЦ «Заднепровский», – 82,2% и 68,2% соответственно. В генетической структуре популяции хряков белорусской черно–пестрой породы, разводимых на базе КУСП «Дуниловичи–Агро», на долю генотипа MUC4^{CC} приходилось 33,3%. Частота встречаемости генотипа MUC4^{CG} колебалась от 17,8% у хряков белорусской мясной породы до 66,7% у животных белорусской черно–пестрой породы.

В ходе дальнейших исследований мы изучили влияние отцовских генотипов по локусу гена MUC4 (in 17) на сохранность поросят к отъему (таблица 3). В качестве исследуемых пород были выбраны белорусская крупная белая и дюрок, так как лишь в них были выявлены все возможные полиморфные варианты гена MUC4 (in 17).

Из данных таблицы 3 видно, что предпочтительным генотипом в плане повышения сохранности молодняка к отъему является генотип MUC4^{GG}. Следует отметить, что с повышением концентрации аллеля MUC4^G в отцовских генотипах растет и процент сохранности поросят–сосунов.

Было установлено, что хряки белорусской крупной белой породы генотипа MUC4^{GG} достоверно (P<0,05) превосходили хряков генотипа MUC4^{AA} по сохранности потомков на 3,0 проц. пункта. Разница по данному показателю между отцовскими генотипами MUC4^{AG} и MUC4^{AA} составила 0,7 проц. пункта.

Таблица 3 – Влияние генотипа хряков по гену MUC4 (in 17) на сохранность поросят к отъему

Порода	Генотипы хряков	Количество опоросов	Многоплодие, гол.	Количество поросят после выравнивания гнезд, гол.	Количество поросят при отъеме, гол.	Сохранность поросят к отъему, %
Белорусская крупная белая	GG	49	11,7±0,21	11,4±0,05	9,8±0,11*	86,8±1,16*
	AG	185	11,4±0,12	11,3±0,07	9,4±0,06	84,5±0,78
	AA	306	11,5±0,09	11,4±0,05	9,5±0,05	83,8±0,55
Дюрок	GG	31	10,8±0,21	11,1±0,19	9,7±0,08	88,0±1,66*
	AG	95	10,9±0,14	11,2±0,09	9,5±0,08	85,2±1,10
	AA	85	11,4±0,19	11,3±0,10	9,4±0,10	83,5±1,08

Схожие результаты были характерны и для животных породы дюрок. Так, сохранность потомков хряков генотипа MUC4^{GG} была достоверно ($P < 0,05$) выше, чем у хряков генотипа MUC4^{AA} на 4,5 проц. пункта. Гетерозиготный отцовский генотип MUC4^{AG} превосходил генотип MUC4^{AA} по сохранности потомства на 1,7 проц. пункта.

Также следует отметить, что на такой важный показатель репродуктивных качеств свиноматок, как многоплодие (количество живых поросят при рождении), генотипы хряков по исследуемому гену не оказали достоверного влияния.

Выводы. Таким образом, в ходе проведенных нами исследований по интрон 17 была установлена высокая концентрация аллеля MUC4^A в популяциях животных, разводимых в СГЦ «Западный»: белорусская крупная белая – 0,71; хряки сочетания белорусская мясная×ландрас – 0,94; ландрас – 1. При этом частота встречаемости генотипа MUC4^{AA} составила: белорусская крупная белая порода – 60,0%; хряки сочетания белорусская мясная порода × ландрас – 87,5%; ландрас – 100%.

Что касается результатов генотипирования по 7 интрон 17 гена MUC4, то в исследуемых популяциях животных отечественных пород отмечена относительно низкая частота встречаемости мутантного аллеля MUC4^G: белорусская мясная порода – 0,09; белорусская крупная белая порода – 0,16; белорусская черно-пестрая – 0,33. Гомозиготного генотипа по данному аллелю не выявлено, что, по нашему мнению, можно связать с высоким селекционным давлением в СГЦ «Заднепровский», в результате которого переболевшие и ослабленные особи браковались.

Установлено повышение сохранности поросят к отъему, полученных от отцов генотипа MUC4^{GG} в 17 интроне. Хряки белорусской крупной белой породы данного генотипа по сохранности потомков превосходили животных генотипа MUC4^{AA} на 3,0 проц. пункта или на 0,3 головы при достоверности $P < 0,05$. Схожая закономерность была установлена и среди животных породы дюрок. Сохранность потомков хряков генотипа MUC4^{GG} была выше, чем у отцов генотипа MUC4^{AA} на 4,5 проц. пункта или на 0,3 поросенка.

Высокая частота встречаемости нежелательного генотипа MUC4^{AA} свидетельствует о необходимости в ДНК-анализе импортируемых и отечественных племенных животных по локусу гена MUC4 (интрон 17).

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. – М.: 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, N6. – P. 770–780.
6. Filistowicz, M. Uvodnastudiaefektulokusov FUT1 a MUC4 naplodnosfprasnic a uspesnostodchovuprasiat / M. Filistowicz, S. Jasek // Actafytotechnica et zootechnica – Mimoriadnecislo. – 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, N5. – P. 749–752.
9. The F4 fimbrial antigen of Escherichia coli and its receptors / Van den Broeck [et al.] // Vet. Microbiol. – 2000. – Vol. 71. – P. 223–244.
10. The g 243 A>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.

INFLUENCE OF THE FATHERLY GENOTYPE ON MUC4 GENE LOCUS ON SAFETY OF YOUNG GROWTH OF PIGS

D.A. KASPIROVICH, T.L. LEBEDZ, V.A. DOYLIDOV

Summary

Polymorphism of population's хряковотечественных and western on a locus of gene MUC4 in introns 7 and 17 is studied.

By results of studying of influence of gene MUC4 (in 17) on safety will ask-sosunov preferable fatherly genotype MUC4GG has been revealed.

© Каспирович Д.А., Лебедь Т.Л., Дойлидов В.А.

Поступила в редакцию 19 сентября 2014г.