

УДК 636.4.082.12

UDC 636.082.12

**ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЕ КАЧЕСТВА
СВИНЕЙ ПОРОДЫ ЛАНДРАС РАЗНЫХ
ГЕНОТИПОВ ПО ГЕНАМ PRLR И MC4R**

**REPRODUCTIVE QUALITIES OF LANDRACE
PIGS OF DIFFERENT GENOTYPES IN GENES
PRLR AND MC4R**

Леонова Мария Анатольевна
аспирантка

Leonova Maria Anatolyevna
postgraduate student

Святогорова Александра Евгеньевна
аспирантка
*Донской государственный аграрный университет,
п. Персиановский, Россия*

Svyatogorova Aleksandra Evgenyevna
postgraduate student
Don state agrarian university, Persianovsky, Russia

В статье представлен анализ влияния генов PRLR и MC4R на воспроизводительные показатели свиноматок породы ландрас. Показана частота аллелей и генотипов указанных генов-маркеров и их взаимосвязь с воспроизводительными качествами

The article presents an analysis of the influence of genes PRLR and MC4R on reproductive performance of Landrace sows. The frequency of alleles and genotypes of this marker genes and their relationship to reproductive performance are shown

Ключевые слова: ГЕН PRLR, ГЕН MC4R,
ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЕ КАЧЕСТВА,
СВИНЬИ

Keywords: GENE PRLR, GENE MC4R,
REPRODUCTIVE TRAITS, PIGS

В настоящее время интенсификация отрасли животноводства настоятельно требует дальнейшего развития теоретических основ и совершенствования организационных форм селекции за счет привлечения новых методов оценки животных [4,7,9]. Молекулярно-генетические методы анализа, основанные на полиморфной природе ДНК, позволяют определять ряд генов, влияющих на формирование признаков продуктивности животных [6,8,11].

Ген рецептора пролактина (*PRLR*) на сегодняшний день рассматривается в качестве перспективного гена-маркера продуктивности свиней. Рецептор пролактина является специфическим рецептором гормона передней доли гипофиза – пролактина (*PRL*), который в организме млекопитающих участвует в регуляции роста, метаболизма и размножения [17]. По структуре и биологическим свойствам пролактин имеет общие черты с гипофизарным гормоном роста (соматотропином, *GH*). Ген *PRLR* детерминирует специфический рецептор гормона передней доли гипофиза — пролактина, который в организме млекопитающих участвует

в регуляции роста, метаболизма и размножения. Влияние пролактина в большей степени связывают с воспроизводительными качествами, развитием молочных желез и лактацией. Пролактин также считается лютеотропным гормоном, поддерживающим существование желтого тела и образование им прогестерона [5].

Ген *PRLR* у свиней картирован на 16 хромосоме, и его AluI полиморфизм обуславливает наличие трех генотипов AA, BB и AB [17]. Drogemüller С. с соавторами [10] была показана связь между генотипами гена *PRLR* и репродуктивными качествами свиней, такими как количество поросят при рождении и многоплодием. Дальнейшие исследования по этому вопросу показали, что предпочтительный генотип (т.е. определяющий высокий уровень продуктивности) по гену *PRLR* для свиней разных пород и линий не является универсальным [1,14,16,17]. Для использования данного гена в качестве маркера продуктивности в селекционной работе необходимо проведения предварительных исследований с учетом породной и линейной принадлежности свиней.

Особый интерес среди кандидатов сигнальных молекул, участвующих в регулировании энергетического гомеостаза, представляет меланокортиновый рецептор-4 (*MC4R*) [1,5,15]. Точечная мутации в седьмом экзоне гена *MC4R* приводит к нарушению проведения гормонального сигнала лептина через *MC4R*_и, тем самым, влияет на признаки, определяющие откормочную и мясную продуктивность животного [15].

У свиней ген *MC4R* локализован на хромосоме 1 (SSC1). Функциональной особенностью *MC4R* является контроль массы тела и регуляция пищевого поведения. Механизмы этого действия до конца не изучены, но на основании имеющихся литературных данных можно заключить, что некоторые особенности данного процесса реализуются при взаимодействии *MC4R* с системой лептина [1].

На сегодняшний день считается, что в результате мутации в гене *MC4R* происходит нарушение проведения гормонального сигнала лептина.

Жировая ткань играет активную роль в регуляции энергетического гомеостаза организма, действуя как эндокринный орган. Изменения в этом обмене считаются важными для пубертатного перехода в репродуктивной функции. Лептин увеличивает секрецию гонадотропных гормонов, которые необходимы для инициации и поддержания нормальной репродуктивной функции [9,15].

На основании выше перечисленных особенностей, ген *MC4R* может оказывать влияние на репродуктивные качества свиней. Однако анализ литературных источников показал, что как правило, все работы посвящены откормочным и мясным качествам, в то время как влияние данного гена на репродуктивные качества свиней практически не изучены.

В связи с этим **целью работы** стало изучение влияния генов *MC4R* и *PRLR* на репродуктивные качества свиноматок породы ландрас.

Материалы и методы

Исследования проводились в лаборатории молекулярной диагностики и биотехнологии с.-х. животных Донского государственного аграрного университета.

Объектом исследования служили свиноматки породы ландрас (n=56). Влияние генотипов на репродуктивные качества оценивали по количеству поросят при рождении (гол.), многоплодию (гол.), массе гнезда при рождении (кг). Все свиноматки содержались в одинаковых условиях и имели как минимум три опороса. Для анализа были взяты данные по первым трем опоросам.

Для проведения молекулярно-генетических исследований у животных были отобраны образцы ткани с ушной раковины площадью 1 см² (ушные выщипы). ДНК выделяли из ушных выщипов с применением набора реагентов DIAtom DNA Prep 100 (ООО «НПФ Генлаб»). Анализ

проводили методом ПЦР-ПДФ (полимеразной цепной реакции - полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) [2,3,10]. Рестрикцию амплифицированного фрагмента гена *MC4R* и *PRLR* проводили эндонуклеазой TaqI и эндонуклеазой AluI, соответственно. По результатам молекулярно - генетического анализа определяли наличие и частоту аллелей и генотипов.

Амплификацию фрагмента (163 п.н.) гена *PRLR* проводили с использованием праймеров 5'-CGTGGCTCCGTTTGAAGAACC-3'; 5'-CTGAAAGGAGTGCATAAAGCC-3' в следующем режиме: предварительная денатурация при 94°C - 4 мин, 35 циклов: 94°C - 30 с, 55°C - 60 с, 72°C - 30с; заключительный синтез при 72°C - 7 мин [13,17].

Размер полученных рестрикционных фрагментов определяли методом электрофореза в 2,5%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия (рис.1).

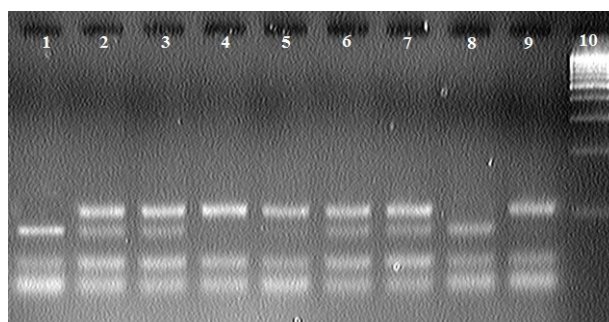


Рис. 1. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДФ гена *PRLR*/AluI в 2,5% агарозном геле

(Обозначения: 4,5,9 – генотип AA (85-, 59-, 19 н.п.); 1,8 – генотип BB (104- и 59 н.п.); 2,3,6,7 – генотип AB (104-, 85-, 59- и 19 н.п.); 10 - ДНК-маркер 100 bp (СибЭнзим))

Амплификацию фрагмента (226 п.н.) гена *MC4R* проводили с использованием праймеров 5'- TACCCTGACCATCTTGATTG – 3'; 5'- ATAGCAACAGATGATCTCTTTG-3' в следующем режиме: предварительная денатурация при 94°C- 5 минут, 35 циклов: 94°C - 30 с, 62°C - 30 с, 72°C – 30 с; заключительный синтез при 72°C - 7 мин [15].

Размер полученных рестрикционных фрагментов и генотипы определяли методом электрофореза в 2%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия (рис.2).

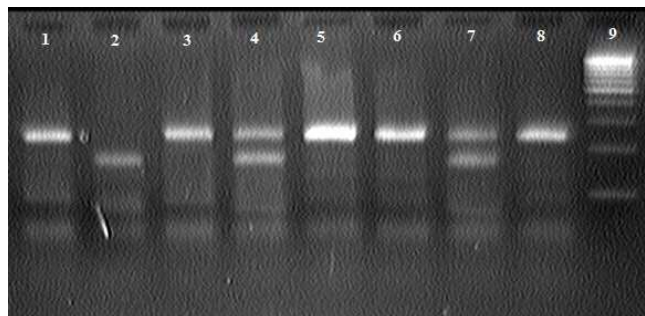


Рис. 2. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена *MC4R*/TaqI в 2 % агарозном геле

(Обозначения: 1,3,5,6,8– генотип AA (226 н.п.); 2– генотип GG (156- и 70 н.п.);4,7– генотип AG (226-,156- и 70 н.п.); 9 - ДНК-маркер 100 bp (СибЭнзим))

Результаты исследований и обсуждения

В результате проведенных исследований у свиноматок породы ландрас были установлены генотипы AA, AB и BB гена *PRLR*. При оценке распределения частот явным приоритетом располагал аллель А, который практически в равной степени закреплен в генотипах AA/*PRLR* и AB/*PRLR* (табл.1). Низкой частотой обладал генотип BB/*PRLR*. В исследованиях Mikhailov N. [17] с соавторами на свиноматках крупной белой породы было установлено наличие всех трех генотипов AA, AB и BB с частотой 24,5; 32,6; 42,9% соответственно. Частота аллеля В составила 0,59, аллеля А – 0,41. Таким образом, сравнивая полученные нами данные с исследованиями других ученых, можно отметить различия частот аллелей и генотипов гена *PRLR* у свиней в зависимости от породы.

Таблица 1- Частота аллелей и генотипов гена *PRLR* свиней породы ландрас

Ген	Частота аллелей		Частота генотипов, %		
	А	В	АА	АВ	ВВ
<i>PRLR</i>	0,66	0,34	48,4	35,5	16,1

В результате проведения ДНК-генотипирования свиноматок породы ландрас были установлены все три генотипа АА, АВ и ВВ гена *PRLR*. В исследуемой популяции наибольшей частотой обладал генотип ВВ (табл.1).

Таблица 2 - Частота аллелей и генотипов гена *MC4R* свиней породы ландрас

Ген	Частота аллелей, %		Частота генотипов, %		
	А	G	АА	АG	GG
<i>MC4R</i>	0,39	0,61	21,9	34,4	43,8

Проведенные ранее исследования Гетманцевой Л.В. [15] показали, что у свиноматок крупной белой породы наибольшую частоту имел генотип АА, а частота аллелей А и G составила 0,89 и 0,11, соответственно.

Анализ проведенных нами исследований воспроизводительных качеств свиноматок породы ландрас в зависимости от генотипов гена *PRLR* показал наличие достоверного влияния данного гена на количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда при рождении (табл.3).

Таблица 3 - Воспроизводительные качества свиноматок породы ландрас различных генотипов по гену *PRLR*

Генотипы	Количество поросят при рождении, гол	Многоплодие, гол.	Масса гнезда при рождении, гол
АА	14,7±0,697**	13,5±0,52*	19,6±0,86*
АВ	14,1±0,783	12,8±0,73	18,5±1,052
ВВ	12,4±0,631	11,8±0,70	17,1±0,91

* - P<0,05; ** - P<0,01

В качестве «желательного» установлен генотип *AA/PRLR*. Свиноматки генотипа *AA* по сравнению с аналогами генотипа *BB* имели большее количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда при рождении на 2,3 и 1,7 гол. и 2,5 кг, соответственно. Свиноматки генотипа *AB/PRLR* по воспроизводительным качествам занимали промежуточное положение. Следовательно, концентрация «желательного» аллеля *A/PRLR* способствует повышению воспроизводительных качеств свиноматок породы ландрас.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследований Vincent A. с соавторами [12] на синтетической линии крупной белой породы (400 свиноматок, 1197 опоросов), где животные с генотипом *AA* имели в среднем на 0,66 поросенка больше, чем животные с генотипами *AB* и *BB*. Это говорит о положительном влиянии аллеля *A*. По литературным данным у свиней породы ландрас в качестве «желательного» по воспроизводительным качествам рассматривается генотип *AA*, что также согласуется с нашими результатами.

В результате изучения в исследуемой популяции влияния генотипов гена *MC4R* было установлено достоверное влияния на количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда при рождении (табл.4).

Таблица 4 - Воспроизводительные качества свиноматок породы ландрас различных генотипов по гену *MC4R*

Генотипы	Количество поросят при рождении, гол	Многоплодие, гол.	Масса гнезда при рождении, гол
<i>AA</i>	15,0±0,49*	13,8±0,41*	20,6±0,75*
<i>AG</i>	13,6±0,51	12,5±0,51	18,4±0,78
<i>GG</i>	13,8±0,92	12,9±0,726	18,6±0,93

* - разность между генотипами *AA* и *GG* достоверна при $p < 0,05$

В качестве «желательного» выступает генотип *AA/MC4R*. Свиньи генотипа *AA/MC4R*, относительно аналогов генотипа *AG/MC4R*, имели

превосходство по количеству поросят при рождении на 1,4 гол., многоплодию 1,3 гол. и массе гнезда при рождении 2,2 кг.

Полиморфизм гена *MC4R* обуславливает наличие двух аллелей А и G. Аллель А связан со скоростью роста, а аллель G - с меньшей толщиной шпика. У свиней породы ландрас генотип GG при соответствующем «групповом генотипе» способен, не влияя на скорость роста значительно снижать толщину шпика. Согласно исследованиям Klimenko A. с соавторами [15] для повышения откормочных и мясных качеств у свиней крупной белой породы является генотип AG, а «желательным» по воспроизводительным качествам генотип AA, что согласуется с полученными нами результатами на свиньях породы ландрас. Из этого всего следует, что полиморфизм гена *MC4R* может выступать как маркер продуктивности свиней различной породной принадлежности.

Выводы

В результате проведенных исследований, нами было установлено достоверное влияние полиморфизма генов *PRLR* и *MC4R* на воспроизводительные качества свиноматок породы ландрас. Полученные результаты подтверждают возможность использования данных генов в качестве генетических маркеров для повышения продуктивности свиней с учетом породной принадлежности.

Список литературы

1. Гетманцева Л.В. Молекулярно-генетические аспекты селекции животных / Молодой ученый. 2010. № 12-2. С. 199-201.
2. Гетманцева Л.В. Полиморфизм гена *MUC4* и воспроизводительные качества свиней / Л.В. Гетманцева., Н.В. Михайлов, А.Ю. Колосов, А.В. Радюк // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2013. Т. 1. № 3-1 (31). С. 143-146.
3. Гетманцева Л.В. Взаимосвязь полиморфизма гена *LIF/DRAIII* с продуктивными качествами свиней / Л.В. Гетманцева, М.А. Леонова, О.Л. Третьякова А.В. Усатов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2014. № 3. С. 36-39
4. Колосов А.Ю., Третьякова О.Л., Гетманцева Л.В. Перспективы использования информационных технологий для ускорения генетического прогресса в племенном животноводстве. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2014. № 3. С. 78-81.

5. Леонова М.А. Перспективные гены-маркеры продуктивности сельскохозяйственных животных. / М.А. Леонова, А.Ю. Колосов, А.В. Радюк, Е.М. Бублик, А.А. Стетюха, А.Е. Святогорова // Молодой ученый. 2013. № 12 (59). С. 612-614.
6. Леонова М.А. Интенсификация селекционного процесса в животноводстве с использованием метода ПЦР. / М.А. Леонова, А.Ю. Колосов, А.Е. Святогорова, А.В. Радюк, Н.Ф. Бакоев // Молодой ученый. 2014. № 11. С. 172-175.
7. Нормативно-правовые и технолого-экономические аспекты развития приоритетных отраслей животноводства / А.И. Бараников, В.Н. Бевзюк, А.М. Донерян, Ю.А. Колосов, Н.Ф. Илларионова, В.Н. Приступа, С.В. Шаталов, А.Д. Брик, В.А. Бараников: монография Персиановский, 2013.
8. Разработка объектов интеллектуальной собственности в сельском хозяйстве / А.И. Бараников, Ю.А. Колосов, М.А. Лемешко: п. Персиановский, 2012.
9. Третьякова О.Л. Инновационные технологии в животноводстве / О.Л.Третьякова, А.Ю.Колосов, Г.И.Федин // Вестник аграрной науки Дона. 2013. № 2 (22). С. 87-94.
10. Широкова Н.В. Генетическое детерминирование плодовитости овец. Молодой ученый. 2013. № 6. С. 785-787.
11. Эффективное развитие семейных животноводческих ферм мясного направления / С.В. Шаталов, Ю.А. Колосов, В.Н. Приступа, М.С. Шолух, Е.Н. Приступа, В.В. Кошляк, В.А. Святогоров: Донской государственный аграрный университет МСХ и продовольствия Ростовской области, п. Персиановский, 2012.
12. Dvořáková, V., R. Stupka, M. Šprysl, J. Čítek and M. Okrouhlá et al., 2011. Effect of the missense mutation Asp298Asn in MC4R on growth and fatness traits in commercial pig crosses in the Czech Republic. Czech J. Anim. Sci., 56: 176-180.
13. Drogemüller C., Hamann H., and Distl O. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines // J. Anim. Sci. - 2001. - № 79. -P.2565-2570.
14. Fan B., S.K. Onteru, M.T. Nikkilä, K.J. Stalder and M.F. Rothschild, 2009. Identification of genetic markers associated with fatness and leg weakness traits in the pig. Anim. Genetics, 40: 967-970.
15. Klimenko, A., A. Usatov, L. Getmantseva, Yu. Kolosov, O. Tretyakova, S. Bakoev, O. Kostjunina and N. Zinovieva. Effect of melanocortin-4 receptor gene on growth and meat traits in pigs raised in Russia. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 2014 9(2): 232-237.
16. Karagodina N., Kolosov Y., Bakoev S., Kolosov A., Leonova M., Shirokova N., Svyatogorova A., Getmantseva L., Usatov A. Influence of various bio-stimulants on the biochemical and hematological parameters in porcine blood plasma. World Applied Sciences Journal. 2014. T. 30. № 6.С. 723-726.
17. Mikhailov N.V., Getmantseva L.V., Usatov A.V., Bakoev S.Yu. Assotiations between PRLR/AluI Gene Polymorphism with Reproductive, Growth and Meat Traits in Pigs. Cytologyand Genetics, 2014. vol.48, №5, pp.323-326.

References

1. Getmantseva L.V. Molekulyarno-geneticheskie aspekti v selektsii zhiivotnyih / Molodoy ucheniy. 2010. № 12-2. S. 199-201.
2. Getmantseva L.V. Polimorfizm gena MUC4 i vosproizvoditelnyie kachestva sviney / L.V. Getmantseva., N.V. Mihaylov, A.Yu. Kolosov, A.V. Radyuk // Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: Nauka i vyisshee professionalnoe obrazovanie. 2013. T. 1.№ 3-1 (31). S. 143-146.

3. Getmantseva L.V. Vzaimosvyaz polimorfizma gena LIF/DRAIII s produktivnymi kachestvami sviney. / L.V. Getmantseva, M.A. Leonova, O.L. Tretyakova A.V Usatov // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii. 2014. № 3. S. 36-39

4. Kolosov A.Yu. Tretyakova O.L., Getmantseva L.V. Prspektivy ispolzovaniya informatsionnykh tekhnologiy dlya uskoreniya geneticheskogo progressa v plemennom zhivotnovodstve. Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii. 2014. № 3. S. 78-81.

5. Leonova M.A. Perspektivnyie genyi-markeryi produktivnosti selskohozyaystvennykh zhivotnykh. / M.A. Leonova, A.Yu. Kolosov, A.V. Radyuk, E.M. Bublik, A.A. Stetyuha, A.E. Svyatogorova // Molodoy ucheniy. 2013. № 12 (59). S. 612-614.

6. Leonova M.A. Intensifikatsiya selektsionnogo progressa v zhivotnovodstve s ispolzovaniem metoda PCR. / M.A. Leonova, A.Yu. Kolosov, A.E. Svyatogorova, A.V. Radyuk, N.F. Bakoev // Molodoy ucheniy. 2014. № 11. S. 172-175.

7. Normativno-pravovyye i tekhnologo-ekonomicheskie aspektyi razvitiya prioritetnykh otrasley zhivotnovodstva / A.I. Baranikov, V.N. Bevzyuk, A.M. Doneryan, Yu.A. Kolosov, N.F. Illarionova, V.N. Pristupa, S.V. Shatalov, A.D. Brik, V.A. Baranikov: monografiya Persianovskiy, 2013.

8. Razrabotka ob'ektov intellektualnoy sobstvennosti v selskom hozyaystve / A.I. Baranikov, Yu.A. Kolosov, M.A. Lemeshko: p. Persianovskiy, 2012.

9. Tretyakova O.L. Innovatsionnyie tekhnologii v zhivotnovodstve / O.L. Tretyakova, A.Yu.Kolosov, G.I. Fedin // Vestnik agrarnoy nauki Dona. 2013. № 2 (22). S. 87-94.

10. Shirokova N.V Geneticheskoe determinirovanie plodovitosti ovets. Molodoy ucheniy. 2013. № 6. S. 785-787.

11. Effektivnoe razvitie semeynykh zhivotnovodcheskikh ferm myasnogo napravleniya / S.V. Shatalov, Yu.A. Kolosov, V.N. Pristupa, M.S. Sholuh, E.N. Pristupa, V.V. Koshlyak, V.A. Svyatogorov: Donskoy gosudarstvennyiy agrarniy universitet MSH i prodovolstviya Rostovskoy oblasti, p. Persianovskiy, 2012.

12. Dvořáková, V., R. Stupka, M. Šprysl, J. Čítekand M. Okrouhláetal., 2011. Effect of the missense mutation Asp298Asn in MC4R on growth and fatness traits in commercial pig crosses in the Czech Republic. Czech J. Anim. Sci., 56: 176-180.

13. Drogemüller C., Hamann H., and Distl O. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines // J. Anim. Sci. - 2001. - № 79. -P.2565-2570.

14. Fan, B., S.K. Onteru, M.T. Nikkilä, K.J. Stalder and M.F. Rothschild, 2009. Identification of genetic markers associated with fatness and leg weakness traits in the pig. Anim. Genetics, 40: 967-970.

15. Klimenko, A., A. Usatov, L. Getmantseva, Yu. Kolosov, O. Tretyakova, S. Bakoev, O. Kostjunina and N. Zinovieva, 2014. Effect of melanocortin-4 receptor gene on growth and meat traits in pigs raised in Russia. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 9(2): 232-237

16. Karagodina N., Kolosov Y., Bakoev S., Kolosov A., Leonova M., Shirokova N., Svyatogorova A., Getmantseva L., Usatov A. Influence of various bio-stimulants on the biochemical and hematological parameters in porcine blood plasma. World Applied Sciences Journal. 2014. T. 30. № 6. C. 723-726.

17. Mikhailov N.V., Getmantseva L.V., Usatov A.V., Bakoev S.Yu. Assotiations between PRLR/AluI Gene Polymorphism with Reproductive, Growth and Meat Traits in Pigs. Cytology and Genetics, 2014. vol.48, №5, pp.323-326.