

## Summary

Polymorphism of H-FABP gene in different pigs populations

T.I.Ypishko, M.A.Kovaltchuk, O.P.Kurak, N.V.Zhurina.

The identification best of H and D alleles of H-FABP gene has been found. Analysis of spreading of allele variants of H-FABP gene in pig populations of different breeds has been made. The tendency of the prevalence of H-FABP<sup>HH</sup> and H-FABP<sup>dd</sup> genotypes of meaty breeds has been established.

УДК 636.4.082:612.8:577.113.1

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-ТЕХНОЛОГИЙ В СЕЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Шейко И.П., Епишко Т.И., Шейко Р.И., Курак О.П.

РУП «Институт животноводства НАН Беларуси»  
г. Жодино, Минская обл., Республика Беларусь, 222160

Прогресс в разведении сельскохозяйственных животных может быть достигнут благодаря комбинированию традиционных селекционируемых параметров с молекулярно-генетической информацией о локусах количественных признаков – QTL. Последние являются более предпочтительными для оценки генотипов и маркерной селекции в связи с меньшим влиянием рекомбинаций. Кроме маркирования генов количественных признаков, полиморфизм ДНК используется также для генотипирования; выявления дефектных генов, ответственных за развитие наследственных болезней и мутаций; диагностики инфекций.

В РУП «Институт животноводства НАН Беларуси» ведется исследование по разработке ДНК-технологий методом ПЦР - ПДРФ и применению их в селекционных программах. Основными направлениями работы в настоящее время являются:

1. Поиск и последующее использование генетических маркеров, связанных с продуктивными качествами животных (гены: эстрогенового рецептора - ESR, пролактинового рецептора - PRLR, связанного белка жирных кислот - H-FABP у свиней и гена каппа-казеина - CSN3 – у крупного рогатого скота).

2. Поиск и последующее использование генетических маркеров, детерминирующих мутации (генетические аномалии), для диагностики наследственных заболеваний (гены: злокачественной гипертермии - RYR1 у свиней, дефицита лейкоцитарной адгезии – BLAD у крупного рогатого скота).

3. Разработка метода достоверности происхождения крупного рогатого скота по полиморфизму длин нуклеотидных последовательностей ДНК (по микросателлитным локусам).

Для целенаправленного и эффективного внедрения и использования в животноводстве Республики маркер-зависимой селекции нами были определены следующие задачи:

1. Выбор спектра молекулярно – генетических маркеров на основании анализа мировых информационных ресурсов, в том числе баз данных сети Интернет.
2. Разработка методов ПЦР-ПДРФ для выбранных генов.
3. Определение частот встречаемости аллельных вариантов и выявление их ассоциаций с продуктивными качествами животных.
4. Оценка эффективности использования генетических маркеров в селекции.

При создании банка ДНК использовали пробы ткани, крови или спермы животных. ДНК выделяли фенольно-хлороформовым, фенольно-перхлоратным и перхлоратным методами.

Созданный банк ДНК используется для апробации разрабатываемых систем ДНК - анализа генетических маркеров. В настоящее время выявлен ряд генов – кандидатов и определены их полиморфные варианты, которые могут оказывать прямое или косвенное влияние на развитие признаков продуктивности животных. Из многообразия существующих генетических маркеров были отобраны гены, анализ которых, по нашему мнению, играть важную роль в повышении эффективности селекционного процесса. Для каждого из них были предложены модели диагностики, которые в настоящее время успешно апробируются в племенном животноводстве.

У свиней выявлено около 80 генов, предположительно влияющих на их продуктивные качества. Наиболее широкое распространение в качестве генетического маркера плодовитости свиней получил ген эстрогенового рецептора (ESR). Использование в селекционном процессе свиноматок с предпочтительным генотипом ESR<sup>BB</sup> позволяет увеличить размер гнезда по первому опоросу на 2,3 поросенка, а в среднем по трем опоросам - на 1,5 поросенка по сравнению с животными с генотипом AA ( $p < 0,001$ ). Ген ESR является не единственным генетическим маркером многоплодия свиноматок. Существует целый ряд других генов, связанных с плодовитостью, в частности ген - PRLR (пролактинового рецептора), который связан с размером гнезда и имеет значительный аддитивный эффект по данному признаку (0,55 при  $p < 0,05$ ).

Выявлены гены, определяющие у свиней внутримышечные отложения жира и толщину шпика, в том числе ген связанного белка жирных кислот - H-FABP, имеющий три типа аллельного полиморфизма (A, D, H) и контролирующей состав туш и качество мяса. Отбор предпочтительных аллельных вариантов гена H-FABP позволит увеличить откормочную и мясную продуктивность свиней на 7-9%.

Известно, что интенсивная селекция на мясность, сопровождается заметным ухудшением качества мяса в виде патологически бледной, водянистой, мягкой свинины – PSE или, напротив, темной, сухой жесткой – DFD, и чувствительностью к синдрому злокачественной гипертермии MHS, которая возникает вследствие мутации в гене RYR1<sup>n</sup>. Сегодня отсутствуют рекомендации по использованию в селекции свиней диагностики стрессовой чувствительности, подтвержденные обширными статистическими данными о частотах встречаемости аллельных вариантов у различных пород. В этой связи разработка усовершенствованной системы молекулярно – генетического анализа стрессчувствительности свиней и ее широкое использование в племенном свиноводстве имеет большое значение.

Проведенные исследования по поиску маркеров, связанных с белкомолочностью у крупного рогатого скота, свидетельствуют о взаимосвязи содержания белка в молоке с аллельным состоянием локуса каппа-казеина (CSN3) – одним из немногих известных генов, однозначно связанных с признаками белкомолочности и технологическими свойствами молока. Белок каппа-казеина, контролируемый аллелем В, имеет ряд отличительных особенностей по сравнению с аллелем А: различие в размере мицелл, более высокое содержание протеина, большую стабильность при нагревании и замораживании, лучшие свойства для сыроделия (более короткое время коагуляции, коагулят более плотной консистенции и более высокий выход сыра – на 5-10%). Животные с гомозиготным генотипом ВВ имеют превосходство по содержанию белка на 0,2-0,4%. Молоко, полученное от коров с таким генотипом, по технологическим параметрам имеет преимущество для производства белкомолочных продуктов.

Накоплены и реальные результаты генетического тестирования наследственных болезней. Так, носительство BLAD, приводящее к разрушению иммунной системы у крупного рогатого скота, встречается в среднем с частотой 0,125%. Однако, среди быков голштинской породы в США, интенсивно используемых в системе искусственного осеменения, ее обнаруживают в 15% случаев, а многие выдающиеся животные – ее гетерозиготные носители. С помощью ПЦР-ПДРФ данная мутация обнаруживается в гомо- и гетерозиготном состоянии.

Стремительное развитие исследований генома представляет широкий выбор микросателлитных последовательностей, которые могут служить маркерами при анализе происхождения животных. Применение микросателлитных маркеров, по сравнению с традиционным методом определения достоверности происхождения животных – типированием по группам крови, является более точным. При использовании 6 полиморфных микросателлитных локусов крупного рогатого скота вероятность

исключения неправильной записи о происхождении достигает 99%, в то время как использование 11 систем групп крови позволяет достичь уровня 98%.

Отсутствие генетической экспертизы истинности происхождения племенных животных приводит к тому, что в селекционном процессе будут постоянно участвовать 20-30% животных, не соответствующих по своим генетическим характеристикам селекционным планам. Такая ситуация заводит селекцию в тупик и является одной из основополагающих причин сдерживания прогресса в племенном животноводстве и отставания уровня генотипа отечественных животных от зарубежных по многим хозяйственно-полезным признакам.

Таким образом, использование ДНК- маркеров обеспечивает выявление, а, следовательно, и выбраковку скрытых носителей того или иного полиморфного варианта гена, позволяет нивелировать нежелательные аллели в популяции за одно поколение, значительно ускорить процесс селекции, устранив при этом влияние факторов модификационной изменчивости. Использование генетических маркеров является актуальным и перспективным направлением, однако требует дифференцированного подхода в зависимости от породной принадлежности, генетической структуры стада и конкретной селекционной задачи. Кроме того, проведение данных исследований обусловлено необходимостью совершенствования генетического потенциала отечественных пород, иначе республиканское племенное и промышленное животноводство не устоит от экспансии иноземных пород, не всегда пригодных для белорусской экономики, экологии и кормовой базы.

Литература:

1. Брэм Г., Бренинг Б. Использование в селекции свиней молекулярной геномной диагностики злокачественного гипертермического синдрома (MHS) // Генетика.- 1993.- т 29.- № 6.- С. 1009-1013.
2. Калашникова Л.А., Дунин И.М., Глазко В.И. и др. ДНК-технологии оценки сельскохозяйственных животных// Изд-во ВНИИплем.-Лесные Поляны.-1999.-148 с.
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование // М.: "Мир".- 1984.- 480 с.

### Резюме

Приведены основные направления исследований по разработке ДНК-технологий методом ПЦР - ПДРФ и применения их в селекционных программах.

Ключевые слова: метод ПЦР - ПДРФ, RYR1, ESR, PRLR, H-FABP, CSN3, BLAD, оценка достоверности происхождения.

## Summary

DNA-technologies in the selection work with Farm Animals

I.P. Sheiko, T.I. Yepishko, R.I. Sheiko, O.P. Kurak .

Ways of researching DNA-technologies by PRC-RFLP method have been formed. Their further improvement in breeding programmes are described.

Key words: PRC-RFLP method, RYR1, ESR, PRLN, H-FABP, CSN3, BLAD, reliable appearance estimation.

УДК 636.2.034:612.02

## ПОДГОТОВКА СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ К ОПЛОДОТВОРЕНИЮ ЯЙЦЕКЛЕТОК IN VITRO

Ганджа А.И., Леткевич Л.Л., Симоненко В.П., Голубец Л.В.<sup>1</sup>

РУП «Институт животноводства НАН Беларуси»,

<sup>1</sup>УО «Гродненский государственный аграрный университет»

Важнейшим ресурсом повышения эффективности производства сельскохозяйственной продукции, в том числе продуктов животноводства, являются технологии, основанные на последних достижениях сельскохозяйственной и биологической науки. В этом плане особые надежды связаны с развитием биотехнологий, основанных на культивировании *in vitro* эмбрионов с их последующей трансплантацией животным-риципиентам для продукции потомства. Этот подход направлен на максимальное использование потенциала отдельных, наиболее высокопродуктивных доноров яйцеклеток для генетического улучшения продуктивности популяций сельскохозяйственных животных [2].

Известно, что для успешного оплодотворения ооцитов, сперматозоиды млекопитающих проходят процесс созревания или капацитации. В естественных условиях это происходит в половых путях самок и заключается в изменении характера плавательной активности и преобразовании строения клеточных мембран на головке спермиев. Эти преобразования состоят в удалении поверхностной оболочки спермиев, а также в обеспечении исходно неподвижных половых клеток необходимыми веществами для придания им плавательной активности. Окончательной стадией преобразования спермиев (фаза капацитации) при постановке опытов *in vitro* можно считать приобретение ими оплодотворяющей способности [1].

Цель исследований.

Целью наших исследований явилась разработка метода подготовки спермиев быков к оплодотворению в условиях *in vitro*.

Материалы и методика исследований.

Исследования были проведены в лаборатории генетики РУП «Институт животноводства НАН Беларуси». Созревание ооцитов проводили