

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ДОНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

**ЛЕОНОВА МАРИЯ АНАТОЛЬЕВНА**

**ОЦЕНКА ПРОДУКТИВНОСТИ СВИНЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ ПО  
ГЕНАМ LIF, MC4R, PRLR**

06.02.07 Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных  
животных

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:

кандидат сельскохозяйственных наук

**Гетманцева Любовь Владимировна**

пос. Персиановский - 2015

## ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЦР-ПДРФ – полимеразная цепная реакция с изучением полиморфизма длин рестрикционных фрагментов

Л – ландрас

КБ – крупная белая

Д – дюрок

LIF – лейкемия-ингибирующий фактор

PRLR – рецептор пролактина

MC4R – меланокортиновый рецептор-4

SNP - единичные однонуклеотидные мутации

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ	7
2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
2.1. Племенной отбор, его виды и факторы повышения эффективности	12
2.2. Селекция животных с использованием ДНК-маркеров	20
2.3. Молекулярно-генетические методы селекции сельскохозяйственных животных	29
2.4. Перспективные гены-маркеры продуктивности свиней	35
3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ	49
3.1. Зоотехнические исследования	49
3.2. Лабораторные исследования	54
3.3. Популяционно – генетический анализ	60
3.4. Статистический анализ	60
4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	62
4.1. Распределение частот аллелей и генотипов по гену LIF/DraIII у свиней различных пород и линий	62
4.1.1. Распределение частот аллелей и генотипов по гену LIF у свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса	62
4.1.2. Распределение частот аллелей и генотипов по гену LIF у свиней крупной белой породы	66
4.1.3. Распределение частот аллелей и генотипов по гену LIF у свиней породы дюрок	68
4.2. Влияние генотипов гена LIF на продуктивные качества свиней породы ландрас	69
4.2.1. Воспроизводительные качества свиней различных генотипов по гену LIF с учетом линейной принадлежности	69

4.2.2. Откормочные и мясные качества свиней различных генотипов по гену LIF	77
4.3. Распределение частот аллелей и генотипов по гену MC4R у свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса	82
4.4. Влияние генотипов гена MC4R на продуктивные качества свиней породы ландрас	86
4.4.1. Воспроизводительные качества свиней различных генотипов по гену MC4R с учетом линейной принадлежности	86
4.4.2. Откормочные и мясные качества свиней различных генотипов по гену MC4R	89
4.5. Распределение частот аллелей и генотипов гена PRLR у свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса	94
4.6. Влияние генотипов гена PRLR на продуктивные качества свиней породы ландрас	98
4.6.1. Воспроизводительные качества свиней различных генотипов по гену PRLR с учетом линейной принадлежности	98
4.6.2. Откормочные и мясные качества свиней различных генотипов по гену PRLR	101
4.7. Экономическая эффективность генотипирования в селекции свиней	106
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	<b>110</b>
<b>ВЫВОДЫ</b>	<b>110</b>
<b>ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ</b>	<b>112</b>
<b>ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ</b>	<b>113</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>114</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Совершенствование племенных и продуктивных качеств сельскохозяйственных животных является важной приоритетной задачей в обеспечении продовольственной безопасности России. В связи с этим существенно повышается роль селекционных программ, ориентированных на улучшение существующих и выведение новых пород и внутривидовых типов и линий животных с помощью внедрения в практику достижений современной генетики. В настоящее время одной из главных проблем селекционного процесса является изучение механизмов формирования высокой продуктивности с использованием современных технологий (Н.А. Зиновьева и др., 2010).

Ведущие национальные генетические нуклеусы зарубежных стран, а также ведущие племенные компании (PIC, Nurog, Topigs, Hermitage, Cooper1 и др.) широко используют новые подходы для создания специализированных линий свиней, основанные на применении генетических маркеров (Н.А. Зиновьева, 2008).

Выявление и использование в практической селекции генных маркеров наряду с традиционными методами является существенным фактором повышения эффективности племенного отбора (В.И. Глазко и др., 2006; Н.А. Зиновьева, 2010, 2012).

В последнее десятилетие современные достижения в области генетического улучшения продуктивных качеств оказывают значительное воздействие на эффективность производства свинины. Эти технологии, основанные на исследованиях в области молекулярной генетики, имеют значительный потенциал.

В ходе реализации международного научно-исследовательского проекта по расшифровке генома человека было разработано большое количество новых молекулярно-генетических методов исследования, большинство из которых в последнее время автоматизировано. Эти методы анализа получили широкое распространение в медицине, фармакологии, а также в сельском хозяйстве (Ю.А.

Столповский и др., 2013; А. Usatov и др., 2014). В частности, расшифровка геномов сельскохозяйственных животных, создание генных карт, изучение строения определенных генов послужило развитию маркер-зависимой селекции (Н.А. Зиновьева и др., 2010).

Известен ряд генов-маркеров связанных с хозяйственно важными признаками животных. Перспективными генами маркерами продуктивности свиней являются гены лейкемия-ингибирующего фактора (LIF), рецептора пролактина (PRLR) и меланокортинового рецептора-4 (MC4R), которые на сегодняшний день выступают в роли потенциальных ДНК-маркеров воспроизводительных, откормочных и мясных качеств в селекции свиней. В связи с этим существенный интерес представляют исследования оценки влияния этих генов-маркеров на показатели продуктивности свиней с целью дальнейшего их использования в селекционно-племенной работе.

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В настоящее время, в сложных экономических и внешнеполитических условиях стратегически важной задачей агропромышленного комплекса является обеспечение населения высококачественной мясной продукцией собственного производства. Наиболее значительное импортозамещение, наряду с другими отраслями, потребуется в сфере производства мяса. К числу перспективных, с точки зрения решения этой проблемы, относятся скороспелые отрасли животноводства и, особенно, свиноводство (В.Н. Василенко, 2014).

Приоритетным направлением в области свиноводства следует считать освоение интенсивных технологий производства свинины, позволяющих получать конкурентоспособную и высококачественную продукцию. К элементам таких технологий можно отнести повышение темпов совершенствования продуктивных качеств свиноматок, основанное на использовании ДНК-маркеров при генотипировании животных. Внедрение данных технологий в отечественное производство свинины является актуальной задачей, решение которой имеет важное социально-экономическое, политическое и хозяйственное значение.

Свиноводство является наиболее перспективным направлением животноводства России, так как эта отрасль, при эффективной стратегии, позволяет в короткие сроки повысить племенные и продуктивные качества свиней.

Ведение прямой селекции на плодовитость характеризуется относительно низкой эффективностью, что связано, с одной стороны, с низкой наследуемостью признака, с другой стороны, ограничено полом. Кроме того, при селекции на плодовитость и закреплении желательного генотипа необходимо контролировать его возможное негативное влияние на откормочные и мясные качества свиней.

В последнее десятилетие интерес ученых сосредоточен на генах или генных семействах, функции которых вносят значительный вклад в повышение плодовитости, улучшение скорости роста, уменьшение толщины шпика свиней.

Несмотря на большой объем информации, поступающей из зарубежных источников, о преимуществах использования генетических маркеров в селекции, в отечественной научной литературе имеется лишь незначительная информация о подобных результатах, а также данных их практического использования в качестве дополнительных критериев оценки животных в сельскохозяйственных предприятиях Российской Федерации (Н.В. Михайлов, 2013). В этой связи, возникает необходимость в проведении исследований, направленных на изучение роли комплексной оценки племенной ценности свиней с применением ДНК-маркеров. В качестве перспективных ДНК-маркеров рассматриваются гены лейкемия-ингибирующего фактора (LIF), меланокортинового рецептора-4 (MC4R) и рецептора пролактина (PRLR).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет» по заказу Минсельхоза России за счет средств федерального бюджета на 2011-2015 гг. (№ гос. регистрации 0120.0604290), а также в рамках Государственного контракта Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.

**Цель и задачи исследований.** Цель работы состояла в том, чтобы оценить влияние полиморфизма генов LIF, MC4R и PRLR на продуктивные качества свиней.

Достижение поставленной цели обеспечивалось решением следующих задач исследований:

- изучить распределение частот аллелей и генотипов в поголовье свиней крупной белой породы, ландрас, дюрок ЗАО «Племзавод-Юбилейный» по гену LIF;

- изучить распределение частот аллелей и генотипов поголовья свиней породы ландрас ЗАО «Племзавод-Юбилейный» по генам MC4R и PRLR;

- установить влияние аллельных вариантов генов LIF, MC4R и PRLR на воспроизводительные, откормочные и мясные качества свиней породы ландрас, с учетом линейной принадлежности;

- определить желательные генотипы по указанным генам, закрепление которых в популяции будет способствовать повышению продуктивных качеств.

**Научная новизна исследований.** Впервые в РФ проведен анализ распределения аллельных вариантов гена LIF у свиней различных пород. Установлено влияние полиморфизма гена LIF на продуктивные качества свиней. Впервые в ЗАО «Племзавод-Юбилейный» Тюменской области определены генотипы по генам LIF, MC4R, PRLR с использованием молекулярно-генетических методов исследований и изучено их влияние на воспроизводительные, откормочные и мясные качества с учетом линейной принадлежности свиней породы ландрас. Полученные результаты исследований дополняют и расширяют базу знаний о генетических факторах, определяющих уровень продуктивных качеств свиней и подтверждают возможность использования их полиморфизма в качестве ДНК-маркера в отечественных селекционных программах.

**Практическая значимость и реализация результатов исследований.** Проведен анализ генетической структуры стада ЗАО «Племзавод-Юбилейный» Тюменской области по генам LIF, MC4R, PRLR. Определены желательные генотипы, ассоциированные с воспроизводительными, откормочными и мясными качествами свиней.

Предложена и апробирована модель, позволяющая реализовать методические подходы в условиях любого хозяйствующего субъекта.

Результаты работы внедрены в хозяйство ЗАО «Племзавод-Юбилейный» Тюменской области и используются в селекционных программах совершенствования линий и пород свиней, что позволяет значительно повысить эффективность селекционно-племенной работы.

**Апробация работы.** Результаты исследований прошли широкую апробацию в структурных подразделениях Донского государственного аграрного университета (Донского ГАУ), на конференциях и конкурсах различного уровня, в научных периодических изданиях в объемах в соответствии с существующими требованиями.

Основные положения диссертационной работы доложены на международных научно-практических конференциях в Донского ГАУ (2013 – 2015 г.г.); на Всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации по направлению «Сельскохозяйственные науки» - дипломы за 1 место – I и II тур, (п. Персиановский, 2013 г., 2015 г.); на ассоциированном генетическом симпозиуме Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Ростов-на-дону, 2014 г.); на XXI международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (г. Москва, 2014 г.); на международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы генетики и репродуктивной биологии животных» (Санкт-Петербург-Пушкин, 2014 г.); на XVI-й Российской агропромышленной выставке «Золотая осень» (г. Москва, 2014 г.) – золотая медаль; на VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014» (г. Москва, 2014 г.); на международной научно-практической конференции «Повышение конкурентоспособности животноводства и актуальные проблемы его научного обеспечения» (г. Ставрополь, 2014 г.); на конференции Ростовского общества генетиков и селекционеров (г. Ростов-на-дону, 2015 г.) – диплом за 1 место; на конкурсе «Инновации в агропромышленном комплексе» на

XVIII Агропромышленном форуме Юга России (г. Ростов-на-Дону, 2015г.) – бронзовая медаль.

Материалы исследований использованы при разработке «Системы ведения животноводства Ростовской области на период 2013-2020 г.г.».

Результаты исследований доложены на заседании правления ЗАО «Племзавод-Юбилейный» Тюменской области и одобрены для внедрения в производственную деятельность.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- распределение частот аллелей и генотипов гена LIF у свиней различных пород;
- влияние генотипов гена LIF на продуктивные качества свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса;
- частота аллелей и генотипов гена MC4R у свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса и их связь с продуктивными качествами;
- частота аллелей и генотипов гена PRLR у свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса и их связь с продуктивными качествами;
- желательные генотипы по исследуемым ДНК-маркерам для повышения эффективности селекции.

**Публикация результатов исследований.** По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них 6 в изданиях, определенных ВАК Минобразования и науки РФ.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа выполнена на 137 страницах компьютерного текста, иллюстрированного 30 таблицами и 11 рисунками. Диссертация включает в себя введение, обзор литературы, материал, методику и результаты исследований, выводы и предложения производству, список литературы (насчитывающий 226 источников, в т. ч. 96 зарубежных).

## 2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 2.1. Племенной отбор, его виды и факторы повышения эффективности

Одной из основных задач современного интенсивного свиноводства является повышение продуктивных качеств свиней. Ведущую роль здесь играет селекционно-племенная работа, направленная на совершенствование генетического потенциала пород, типов и линий. Фундаментальное значение в становлении селекции на научную основу имели работы ряда ученых второй половины XIX – начала XX веков. Это эволюционное учение Ч. Дарвина (1859), открытие важнейших закономерностей наследования Г. Менделя (1865), В. Иогансона (1909), который предложил называть единицы наследственности генами, совокупность генов организма – генотипом, проявление генов (совокупность признаков и свойств) – фенотипом, Н.Г. Нильсона-Эле (1909), который описал аддитивный эффект генов, Р. Фишера (1918), который ввел основные понятия генетики количественных признаков и развил методы их математического анализа и др. Открытия в генетике способствовали созданию исходного материала для разработки методов селекции и повышения эффективности отбора, ведущего метода селекции.

Основы теории отбора были заложены в трудах Ч. Дарвина в 1859-1871 годах и многих трудах отечественных ученых – А.А. Малигонова (1913), Е.А. Богданова (1922, 1938), П.Н. Кулешова (1926, 1957), Н.Н. Завадовского (1926, 1928), Е.Ф. Лискуна (1961), И.И. Шмальгаузена (1939, 1968), М.Ф. Иванова (1963) и зарубежных ученых - Х.Р. Давидсона (1956), А.С. Серебровского (1969), О.Солбрига, Д. Солбрига (1982), Дж.Ф. Лесли (1982) и др.

Основоположник эволюционной теории Ч. Дарвин определял отбор как движущую силу эволюции, разделяя его при этом на естественный отбор и искусственный. Естественный отбор осуществляется природой в популяции диких животных и растений. Он оказывает свое влияние на популяцию не через гены, а через особь, в которой проявляется комплекс всего генотипа в виде

фенотипического состояния признаков (Е.К. Меркурьева, 1977, 1983). В свою очередь искусственный отбор выступает основным инструментом в практике селекционно-племенной работы (А.И. Овсяников, 1976).

Естественный отбор является основной движущей силой эволюции дикой природы, искусственный отбор – это основная движущая сила культурного животноводства. В связи с этим племенное дело в научно-популярной литературе нередко определяют как эволюционный процесс, управляемый человеком (Л.К. Эрнст, 1987). Однако использование искусственного отбора не исключает действие естественного отбора (В.Ф. Красота и др., 1990; В.С. Смирнов, 1991; В.Б. Дмитриев, 2000; В.А. Багиров, 2005).

Естественный отбор способствует выживанию тех особей, которые благодаря своим индивидуальным особенностям лучше приспособляются к условиям внешней среды, он ограждает популяцию от действия вредных мутаций и сохраняет ее структуру.

Искусственный отбор оказывает давление на частоту генов и получает эффективные сдвиги генных частот, определяющих уровень продуктивности уже в потомстве ближайших поколений (А.И. Бараников, В.Н. Приступа, Ю.А. Колосов, Н.В. Михайлов и др., 2008).

В своих трудах R.M. Koch (1974) охарактеризовал искусственный отбор, как отбор, практикуемый человеком для увеличения частоты желательных генов или комбинаций генов в популяции, путем выявления ценных племенных особей с высокой продуктивностью, способных оставлять потомство с превосходящей продуктивностью при спаривании их с особями других линий и пород.

Искусственный отбор, по мнению Х.Р. Давидсона (1956), О. Солбрига, Д. Солбрига (1982), Д.С. Фолконера (1985), Г.Л. Павлова (1987), включает в себя два вида: автоматический и целенаправленный.

В работах Р. Ригерта и А. Михаэлиса (1967), указано, что отбор бывает трех видов: стабилизирующим, направленным и дизруптивным.

По мнению А.И. Бараникова, В.Н. Приступы, Ю.А. Колосова, Н.В. Михайлова и др. (2008) в практической работе с сельскохозяйственными животными в большей степени применяется направленный метод искусственного отбора. Он за несколько поколений обеспечивает изменение среднего значения секционируемого признака у потомка в желательном для селекционера направлении при одновременном сужении генотипической и фенотипической изменчивости.

По мнению Е.А. Богданова (1922, 1938) в селекционно-племенной работе наиболее актуальными являются два метода отбора: массовый и индивидуальный. При массовом отборе животных оценивают по фенотипическим показателям, без учета оценки их генотипа. В связи с этим улучшение популяции при массовом отборе происходит медленно и редко бывает успешным по полигенным признакам с низкой наследуемостью. Но его необходимо использовать в определенных звеньях селекционной работы.

Отбор по собственной продуктивности базируется на постулате М.Ф. Иванова «хорошие генотипы следует искать среди хороших фенотипов». Однако, И. Иогансон и др. (1970) отмечали, что ни от одного выдающегося животного еще не было получено потомство такого же качества. По результатам исследований многих ученых установлено, что наибольшей точностью обладает оценка по качеству потомства (А.А. Поляничкин, 1980; Н.Г. Дмитриев и др., 1989; Н.В. Михайлов, А.И. Клименко, О.Л. Третьякова, В.К. Яковенко, 2000; Н.В. Михайлов, О.Л. Третьякова, 2001; А.И. Клименко, Э.В. Костылев, С.Х. Карманукян, 2003; Г.В. Максимов и др. 2005; А.И. Рудь, 2006; Н.В. Михайлов, 2007). При высокой наследуемости признаков он дает хорошие результаты, но при низкой его эффективность значительно снижается. Как указывают ряд авторов, если бы количественный признак имел 100% наследуемость, то фенотип и генотип особи по фенотипу признака должны были бы совпадать, но количественных признаков со 100% наследуемостью нет, потому что на них оказывает влияние среда (Х.Ф. Кушнер, 1964; В.И. Степанов, Н.В. Михайлов, 1991, 1995; А.И. Клименко, Э.В.

Костылев, С.Х. Карманукян, 2003; Н.В. Михайлов, О.Л. Третьякова, А.И. Рудь, 2004; Н.А. Святогор, 2011).

При индивидуальном отборе, прежде всего, оценивается потомство отдельного животного в ряду поколений (животные оцениваются по фенотипу и генотипу). Вследствие этого становится возможным оценивать наследственные качества отдельных индивидуумов: способность передавать свои свойства и норму реакции генотипа потомству. Эта информация позволяет предварительно оценить генотип животного по происхождению, а окончательно – по качеству потомства (А.Ю. Колосов, 2010; Н.А. Святогор, 2011).

Серьезное значение в племенной работе придается стабилизирующему отбору, понятие которого было введено И.И. Шмальгаузен (1982). Такой отбор предполагает выбраковку особей с крайними вариантами признака. В результате происходит консолидация признаков, но их среднее значение в популяции не меняется, а частоты генов приобретают генетическое равновесие (А.И. Бараников, В.Н. Пристипа, Ю.А. Колосов, Н.В. Михайлов и др., 2008; А.Ю. Колосов, 2010).

В настоящее время при переводе животноводства на промышленную основу в период интенсификации отрасли свиноводства особое значение приобретает обозначенный А.И. Овсянниковым (1974) технологический отбор. Последний определяется как отбор животных, наиболее приспособленных к новым условиям содержания и эксплуатации. При этом во внимание берутся особенности поведения животных и устойчивость к стрессам. В.С. Смирнов, (2005), Е.В. Поставнева (2009) считают, что нужно работать над созданием генотипов, лучше приспособленных к содержанию на крупных комплексах, поскольку содержание большого количества животных на одном комплексе может способствовать быстрому распространению инфекций и заражению различными заболеваниями.

Если возникает необходимость получить животных одной популяции с противоположным уровнем продуктивности (например, высокой и низкой живой массой) или изучить наследственность и генетическую корреляцию

количественных признаков, применяют дизруптивный отбор, т.е. отбор в двух направлениях (А.И. Бараников, В.Н. Приступа, Ю.А. Колосов, Н.В. Михайлов и др., 2008).

Дизруптивный отбор способствует дивергенции популяции и проводится в противоположных направлениях (Е.К. Меркурьева, 1983). При этом отборе особи с крайними значениями оставляются в стаде, а средние элиминируются. При таком типе отбора в популяции устраняются промежуточные формы и образуются группы, различающиеся между собой по фенотипам и генотипам. Этот отбор может привести к созданию в популяции полиморфизма (Р. Фишер, 1945), появлению дивергенции и изоляции.

Существует косвенный метод отбора, разработанный Е.А. Богдановым (1977), который предполагает использование косвенных признаки, не имеющие прямой хозяйственной ценности, однако корреляционно связанные с количественными хозяйственно полезными признаками.

При уравнивающим отборе в популяции создается сбалансированный генетический груз, действующий на один и тот же аллель одинаково на разных этапах развития у организмов разного пола, что приводит популяцию в состояние равновесия по аллелям данного локуса (Р. Фишер, 1945; Е.К. Меркурьева, 1983).

При смене условий среды возникает направленный отбор. Он благоприятствует особям, у которых проявляется приспособленность к новым условиям. В результате направленного отбора происходит постепенный сдвиг среднего значения признака в сторону его повышения или снижения. При этом уменьшается как фенотипическая, так и генотипическая изменчивость. По мнению Г.В. Максимова (2005) из трех основных форм отбора (стабилизирующий, дизруптивный и направленный) самым актуальным в настоящее время является направленный.

Л.С. Жебровский (1987) разделяет отбор по одному признаку (односторонний) и по ряду признаков (комплексный). По данным отечественных и зарубежных исследователей данный тип отбора приводит к быстрому

достижению целевого эффекта, но односторонняя селекция по одному признаку может привести к снижению жизнеспособности животных и селекционной депрессии. Поэтому в современных условиях ведения животноводства следует применять именно комплексный отбор. В практической селекции стремятся к улучшению общей племенной ценности животного, которая определяется за счет аддитивного эффекта генов. В условиях современного производства на предприятиях целесообразно проводить селекцию одновременно по небольшому количеству признаков (А.Ю. Колосов, 2010; Н.А. Святогоров, 2011; Л.В. Гетманцева, 2012).

В настоящее время при направленном отборе разработаны три метода селекции по нескольким признакам: тандемный (последовательный или ступенчатый), метод селекции по независимым уровням (границам) и метод селекции по зависимым уровням или селекционному индексу (L.N. Hazel, J.L. Lush, 1942; Л.С. Жебровский, 1987; В.И. Степанов, Н.В. Михайлов, 1991; А.Ю. Колосов, 2010; Н.А. Святогоров, 2011).

При тандемной селекции отбор ведется сначала по одному определенному признаку до необходимого уровня его улучшения. Далее, придерживаясь достигнутого уровня, проводят отбор по следующему признаку, включенному в селекционную программу, затем по третьему и т.д. (В.И. Степанов, Н.В. Михайлов, 1991, 1997; Г.В. Максимов, 2010; Л.В. Гетманцева, 2012).

Более эффективным методом селекции по комплексу признаков является метод независимых уровней (границ) отбора, где устанавливают минимальные фенотипические границы для каждого селекционного признака, вследствие чего, животных, имеющих показатели ниже этих требований, исключаются из дальнейшего разведения.

Наиболее перспективной является оценка племенных качеств животных на основе интегрированных комплексных показателей племенной ценности – селекционных индексов. В этом случае итоговая оценка животного формируется с учетом значения всех селекционируемых признаков и соответствующих им

весовых коэффициентов (Л.К. Эрнст, 1987; Н.В. Михайлов, 1996, 2000, 2007, 2012, 2013; Н.А. Святогоров, 2011; А.Ю. Колосов, 2010, 2014; Ю.А. Колосов, О.Л. Третьякова, 2014; О.Л. Третьякова, 2008, 2010, 2013, 2014).

Эффективность селекции зависит от ряда факторов. На эффективность отбора влияет численность популяции животных. В большой группе животных легче выявить лучших, поскольку наблюдается большая изменчивость признаков, большее отклонение по группе. При критическом уровне численности популяции нарастает инбридинг, и действие стабилизирующего отбора затрудняет проведение направленного отбора и снижает его эффективность.

Интенсивность отбора определяется количеством особей, оставленных для дальнейшего воспроизводства после селекционной браковки, т.е. чем меньше особей отбирается для дальнейшего воспроизводства, тем выше считается интенсивность отбора. Повышение интенсивности отбора на практике ограничивается необходимостью поддержания стабильной численности популяции. При оптимальных условиях воспроизводства в свиноводстве необходимо оставлять не менее 30-35% ремонтных свинок от числа родившихся (Н.В. Михайлов, 2012).

Наряду с указанными выше основными факторами, определяющими эффективность племенного отбора, интервал между поколениями, выделяют так же: коэффициент размножения вида, коэффициент наследуемости признаков, степень и характер относительной изменчивости селекционируемых признаков, число признаков отбора, длительность селекции в стаде, наличие признаков у обоих полов, гетерогенность популяции, ее фенотипическая пластичность и др. (Р.А. Фишер, 1958; Х.Т. Фридин, 1977; G. Averdunk, 1977; G. Mitchell и др., 1982; К. Irvin, 1985; 2000; А.И. Клименко, Э.В. Костылев, С.Х. Карманукян, 2003; Н.В. Михайлов, 2007; О.Л. Третьякова, Г.И. Федин, 2008; А.Ю. Колосов, 2010; Л.В. Гетманцева, 2012; А.И. Бараников и др., 2013; О.Л. Третьякова и др., 2014.).

Количественные признаки, которым отдается безусловный приоритет в животноводстве, как известно, носят полигенный характер, то есть определяются

действием группы генов. Сложность изучения наследования количественных признаков связана с разнообразием типов наследования в зависимости от характера взаимодействия достаточно большого количества генов (А.Ю. Колосов и др., 2014; Л.В. Гетманцева и др., 2012; 2013;2014).

В некоторых случаях имеющая место изменчивость признаков в большей степени бывает обусловлена различными взаимодействиями генов. При этом традиционные методы селекции оказываются малоэффективными. В таких случаях необходима оценка наследственных качеств животных на уровне ДНК. (Л.К. Эрнст, Н.А. Зиновьева, 2008; Л.В. Гетманцева, 2012).

Значительное влияние на точность определения племенной ценности животного, оказывает коэффициент наследуемости ( $h^2$ ). Значения коэффициента наследуемости больше 0,4 позволяют селекционеру использовать вышеназванные традиционные методы селекции. По мнению многих отечественных и зарубежных ученых основные биологические и ценные признаки продуктивности свиней по типу наследования разделяются на три группы: воспроизводительные (низконаследуемые  $h^2=0,08-0,20$ ), откормочные (средненаследуемые  $h^2=0,3-0,4$ ) и мясные (высоконаследуемые  $h^2=0,6-0,7$ ) качества (О. Distl и др., 2003; А. Spötter и др., 2005; Н.В. Михайлов, 2008; А.Ю. Колосов, 2010; Л.В. Гетманцева и др., 2014). Низкий коэффициент наследуемости (меньше 0,3) требует привлечения к оценке генотипа дополнительной информации наряду с показателями собственной продуктивности. В качестве источников дополнительной информации могут выступать данные ДНК-генотипирования, т.е. характера распределения частот аллелей и генотипов по гену детерминирующему проявление того или иного признака.

В настоящее время успех в решении задачи совершенствования существующих пород и линий должен применяться комплексный подход. Наряду с методами классической селекции в селекционные программы отечественных свинокомплексов должны быть включены и ДНК-технологии. (Н.А. Зиновьева,

2008; Н.А. Лобан, 2009; А.Ю. Колосов, 2010; Г.В. Максимов и др., 2012, 2014; А. Klimenko и др., 2014; Л.В. Гетманцева и др., 2014).

Проведенный литературный анализ показал, что существует достаточно большое количество традиционных методов отбора, прошедших широкую апробацию. Выбор того, или иного метода зависит от целей проводимого отбора. А степень его эффективности определяется большим числом факторов, основным из которых является наследуемость селекционируемых признаков. При селекции признаков с низкой наследуемостью необходимо применять более сложные методы отбора, чем оценка по фенотипу.

## **2.2. Селекция животных с использованием ДНК-маркеров**

Стремительное развитие молекулярной генетики в последние два десятилетия, связанное, в первую очередь, с технологическим прорывом в области секвенирования геномов высших организмов, позволило уже сейчас применять на практике такие методы работы с биологическими объектами, о которых совсем недавно еще не приходилось и мечтать. В 2004 году был завершен крупномасштабный проект «Геном человека», связанный с расшифровкой полной нуклеотидной последовательности ДНК человека, а уже в 2009 году был расшифрован «Геном свиньи», позволивший прочесть и выстроить нуклеотидную последовательность ДНК этого вида. Не менее интенсивно ведутся работы с геномами других важнейших видов животных и растений (Н.В. Маркин и др., 2010; К.В. Азарин и др., 2012; Л.В. Гетманцева, 2012).

Для большинства важнейших сельскохозяйственных видов созданы подробные генетические карты, на которые нанесены сотни молекулярно-генетических маркеров. Многие из этих данных находятся в свободном, публичном доступе, еще больше данных по генетическим маркерам можно получить на специально оговоренных условиях и для коммерческого

использования. Этот последний факт свидетельствует сам за себя: генетические маркеры начинают все шире использовать в практике и, в первую очередь, с целью применения их как нового и многообещающего инструмента в селекционных программах. Для такого нового подхода в селекции в англоязычной научной литературе был выработан специальный термин — Marker assisted selection (MAS) (Н.А. Зиновьева и др., 2006).

Термин «Marker assisted selection» впервые принят в литературе в 1986 году (Tautz D., 1986; Y. Jung, , 1989; A. Spötter, 2001; M. Rothschild, 2003). Согласно «Словарю терминов по биотехнологии для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства» Продовольственной и сельскохозяйственной Организации Объединенных Наций (The Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO), MAS - «маркерная селекция - использование ДНК-маркеров для повышения эффективности селекционной работы, которое базируется на выявлении маркеров селекционных признаков» (Н.В. Маркин и др., 2010)

Принцип маркер-зависимой селекции, состоит в том, что если известна локализация гена, который влияет на проявление хозяйственно важного признака, то по этому признаку следят не за его собственным проявлением, а по наследованию гена, который его контролирует. Такой отбор особенно эффективен при работе с признаками, контролируруемыми генами с не полной пенетрантностью, а также с количественными признаками, контролируруемыми группами генов с достаточно выраженным влиянием каждого гена группы на проявление признака. Данный подход широко используется в селекционных программах экономически развитых стран в качестве методического приема для интенсификации селекционных процессов (R. Varshney и др., 2005; N. Nanuwong, and W. Vodhisuwan, 2014).

Необходимым условием любой программы MAS является наличие молекулярных маркеров. Таким маркером может выступать любой фрагмент ДНК, который используется для обнаружения полиморфизма и находится в

тесной генетической связи с геном, который отвечает за рассматриваемый признак (M. Rothschild, 2007, К.В. Азарин и др., 2012).

Для живых организмов характерно сцепленное наследование, при котором фрагменты ДНК, локализованные на одной хромосоме в непосредственной близости друг от друга, наследуются вместе. Благодаря этому маркер может использоваться для уточнения механизмов наследования гена, который еще не был точно локализован (В.И. Щербатов и др., 2014).

Использование определенных участков ДНК, для которых установлен полиморфизм, в качестве генетических маркеров получило широкое распространение в восьмидесятых годах XX века для решения таких задач как, сохранение генофондов пород сельскохозяйственных животных, идентификация родственных связей, происхождения пород и отдельных особей, повышение эффективности селекции по отдельным признакам и др. (В.И. Щербатов и др., 2014).

В Европе генетические маркеры стали активно использовать в селекции свиней вначале 1990 г. с целью освобождения популяций от гена, который вызывает синдром стресса у свиней (R. Linville, 2001; И.П. Шейко, 2006; M. Rothschild, 2007; Н.А. Зиновьева, 2008; Г.В. Максимов и др., 2014; В.И. Щербатов и др., 2014).

Фундаментальная основа селекции животных - отбор конкретных особей с желательными признаками. Масштабы и сложность отбора, количество и размер популяций в традиционных селекционных программах требуют новых инструментов, к которым с уверенностью можно отнести MAS. Отбор по молекулярным маркерам имеет огромный потенциал для повышения эффективности и точности традиционной селекции животных (Л.В. Гетманцева, 2012; 2013; 2014; В.И. Глазко и др., 2013).

Известно несколько типов молекулярно-генетических маркеров, которые появляются в результате различных мутаций ДНК: замещённых мутаций (однонуклеотидные замены SNP (Single Nucleotide Polymorphism)), перестановки

(вставки или делеции) и ошибки в репликации tandemных повторов ДНК (В.И. Щербатов и др., 2014).

ДНК-маркеры являются третьим поколением генетических маркеров. Им предшествовали белковые маркеры, а еще ранее – классические генетические маркеры. Теоретическое обоснование использованию генетических маркеров («сигналей») впервые дал А.С. Серебровский (1970): «... сигналами мы называем удобные для менделистических наблюдений альтернативные гены с более или менее известной локализацией, которые, не оказывая воздействия на изучаемый трансгрессирующий признак и влияя достаточно определенным образом, облегчают генетический анализ этого признака, позволяя следить за наследованием того участка хромосомы, в котором эти сигналы расположены».

В настоящее время насчитывается несколько десятков типов молекулярных маркеров. В большинстве случаев генотипы характеризуются с помощью микросателлитов (SSR – Simple Sequence Repeats), поскольку они встречаются в геноме в большом количестве и характеризуются наличием полиморфных вариантов. Микросателлиты – это повторяющиеся участки ДНК длиной в 2 – 6 п.н. При этом для различных аллелей характерно различное число повторов. Эти маркеры известны под несколькими названиями: микросателлиты, STMS (Sequence Tagged Microsatellite Site), STR (Short Tandem Repeat), SSR (Simple Sequence Repeat). Микросателлиты применяют для определения степени гетерозиготности небольших популяций, пород, консолидированности линий и групп, раннего прогнозирования продуктивности животных (Snyder M., 1982; M. Litt и др., 1989; Н.А. Зиновьева, 2008; В.И. Глазко и др., 2009; Н.В. Маркин и др., 2010; К.В. Азарин и др., 2012; Л.В. Гетманцева, 2012; А. Usatov и др., 2014; В.И. Щербатов и др., 2014). Благодаря высокой степени полиморфизма микросателлитные маркеры используют также и при оценке генетических расстояний между популяциями домашних свиней и их диких предков (Г.Е. Сулимова, 2004; Е.А. Гладырь и др., 2009; Ю.А. Столповский, 2013).

Американской компанией «Прикладные биосистемы» (Applied Biosystems) была разработана тест-система с использованием одиннадцати микросателлитов (TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA126, TGLA122, INRA23, ETH3, ETH225, BM1824). Многие ученые отмечают, что при создании маркеров для локусов количественных признаков микросателлитов, как правило, бывает недостаточно (А. Brookes, 1999; И.Г. Удина и др., 2003; Г.Е. Сулимова, 2004; Л.К. Эрнст и Н.А. Зиновьева, 2008, 2010; Н.М. Белоногова, 2014; В.И. Щербатов и др., 2014).

Для того, чтобы более точно оценить генетический потенциал сельскохозяйственных животных непосредственно на уровне генотипа проводятся исследования по выявлению информативных однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) и разработке систем ДНК-анализа генов, влияющих на проявление хозяйственно ценных признаков (Н.А. Зиновьева, 2008; В. Fan и др., 2009). Как правило, SNP представлены двумя аллелями, но могут встречаться и трехаллельные варианты (Е. Lai, 2001). Согласно общепринятому определению, SNP — это однонуклеотидные позиции в ядерной ДНК, для которых в популяции могут встречаться различные варианты последовательностей (аллели) с частотой редкого аллеля не менее 1 %. Причиной этих замен могут служить спонтанные мутации и влияние мутагенов. Отличие последовательностей даже по одной паре нуклеотидов может вызвать различное проявление признака. Для SNP характерна высокая частота встречаемости в геноме (например, у человека соотношение между количеством SNP и числом пар нуклеотидов составляет примерно одна замена на 1000 п.н., соответственно). SNP характеризуются малым числом мутаций из расчета на одно поколение. Это выгодно отличает SNP от микросателлит с точки зрения удобства для популяционно-генетического анализа. Также для SNP разработаны автоматические методы идентификации (R. Linville, 2001; Л.В. Гетманцева, 2012; В.И. Щербатов и др., 2014).

В последнее время иностранные компании стремятся объединить свои усилия по систематизации данных полученных в результате применения на

практике ДНК-маркеров, создавая единую базу данных, тем самым обеспечивая к ней широкий доступ для постоянного пополнения информацией о результатах тестирования большого количества животных по известным SNP (В.И. Щербатов и др., 2014).

Геном свиньи имеет миллионы точечных мутаций. Никакой другой тип геномных различий не способен обеспечить такую плотность маркеров. С помощью ДНК-маркеров можно оценить частоту предпочтительных аллелей для породы или линии, и с учетом этого проводить селекцию животных с целью увеличения концентрации желательного аллеля в изучаемой популяции (Н.А. Зиновьева, 2008; О.В. Костюнина и др., 2012).

ДНК маркеры имеют ряд преимуществ, которые делают их важным инструментом селекции:

1. Позволяют однозначно отличить гомозиготный генотип от гетерозиготного.
2. Не подвержены влиянию условий среды и имеют коэффициент наследуемости  $h^2 = 1,0$ .
3. Как правило, определяются независимо от возраста (в клетках эмбриона, в образцах крови, ткани животного и т.д.).
4. Могут быть определены у обоих полов (например, маркер генотипа, определяющего число поросят в гнезде, относится как к маткам, так и к хрякам).
5. Маркирование признака, который может быть определен после убоя (например, с использованием рианодинового гена (RYR1) (Л.К. Эрнст, Н.А. Зиновьева, 2008).

Маркерные гены особенно актуальны для оценки признаков, фенотипическое проявление которых происходит относительно поздно, ограничено полом или на проявление которых большое влияние оказывают факторы окружающей среды. Такими признаками являются: резистентность или предрасположенность к болезням, плодовитость, молочная и мясная

продуктивности и т.д. По числу генов, влияющих на проявление признака, все признаки можно подразделить на две категории:

1. Моногенные или олигогенные признаки (главные гены). Для таких признаков, в случае приблизительной локализации гена, существует возможность идентификации ДНК-маркеров, расположенных внутри главного гена или в непосредственной близости от него.

2. Полигенные признаки (локусы количественных признаков, QTL). К признакам с полигенной природой наследования относятся большинство важных хозяйственно полезных признаков сельскохозяйственных животных. Полигенная природа признака означает, что его количественный уровень генетически определяется различными аллельными вариантами целого ряда локусов, разбросанных по всему геному (Н.А. Зиновьева, Л.К. Эрнст, 2008).

Определенная часть генов может кодировать продукт, участвующий в ряде ключевых процессов, и, следовательно, оказывать более сильное влияние на формирование признака. Это так называемые «мажорные» гены. В качестве «мажорных» условно принято считать те гены, у которых различие в величине признака между альтернативными гомозиготами равно стандартному отклонению или превышает его. Однако в силу малой изученности геномов домашних животных известно относительно небольшое число подобных генов (D. Tautz, 1986; Л.К. Эрнст, Н.А. Зиновьева, 2008).

Селекция на улучшение интересующего признака, базируется изначально на выборе генов, детерминирующих биохимические процессы, связанные с формированием признака. Затем исследуется полиморфизм этих генов и продуктивные особенности животных, несущих в своем генотипе разные аллели этого гена. Следовательно, гены-кандидаты – это гены, кодирующие ключевые белки, принимающие участие в формировании признака. Особенностью таких генов является то, что изначально неизвестно наличие аллельных вариантов гена и их влияние на величину признака (Л.В. Эрнст, Н.А. Зиновьева, 2008; Л.В. Гетманцева, 2012).

Согласно литературным данным различают позиционные и функциональные гены-кандидаты. О позиционных генах-кандидатах говорят в том случае, если данные гены расположены в области, прилегающей к точке локализации локусов количественных признаков (Л.К. Эрнст, Н.А. Зиновьева, 2008). Функциональные же гены кандидаты – это гены, продукты которых играют ключевую роль в формировании данного признака (М. Litt, 1989; I. Louveau, 2004). Значение генетических вариантов таких генов необходимо исследовать во взаимосвязи с изменением признака (R. Linville, 2001). Методом анализа позиционных генов-кандидатов был открыт «ген мышечной гипертрофии» миостатин, являющийся причиной синдрома двойного бедра у крупного рогатого скота бельгийской голубой породы и пьемонтского скота (А. Terman, 2005). Аналогичный подход был использован для открытия так называемого «гена вареного окорока» свиней породы гемпшир, связанный с мясной продуктивностью и качеством мяса (М. Herrmann, 2007; Л.К. Эрнст, Н.А. Зиновьева, 2008).

Существуют различные механизмы влияния аллельных генов на признаки. В то же время, по мнению многих авторов, маркерная селекция оказывается эффективной даже при отсутствии некоторых из них (например, плейотропии и сцепления). В любом случае, даже временные связи маркерных генов с хозяйственно полезными признаками могут быть использованы в племенной работе с конкретными популяциями животных и получен экономический эффект (Н.А. Зиновьева, 2010; Н.В. Михайлов, Л.В. Гетманцева, 2012; М. Mankowska, 2015).

Генетические маркеры можно определить как участки ДНК, характеризующиеся полиморфизмом, для которых точно установлена их локализация на хромосоме, но не известна биологическая функция. Их назначение – выявление других генов (Н.А. Зиновьева и др., 2011).

Ген – это некоторая последовательность оснований в цепочке ДНК, с помощью которой осуществляется синтез определённого полипептида либо

функциональной РНК, которые в дальнейшем обуславливают формирование признака. Таким образом, ген обеспечивает наследственную передачу признака потомству. В пределах популяции одному гену могут соответствовать несколько различающихся последовательностей нуклеотидов – аллелей. Это явление принято называть полиморфизмом, а такие гены – полиморфными. Аллели могут быть доминантными и рецессивными. Таким образом, наличие полиморфизма гена является причиной изменчивости в популяции, что обеспечивает разнообразие признаков внутри вида (В.И. Щербатов и др., 2014).

Следует отметить, что методы селекции, в которых применяются ДНК-маркеры, разделяют на две основные группы: рассмотренный нами отбор с помощью маркеров (MAS – Marker Assisted Selection) и геномная селекция (Genomic selection). Геномная селекция (термин предложен Хейли и Вишером в 1998 г.) предусматривает одновременное изучение большого числа маркеров, покрывающих весь геном. Технология геномной селекции основана на использовании чипов (матриц), содержащих информацию о 50-60 тысяч SNP, связанных с основными генами количественных признаков. Эта технология получила развитие в трудах Meuwissen и др., предложивших методологию аналитической оценки племенной ценности животных с помощью карты маркеров, охватывающей весь геном (F. Weisz и др., 2011; А.Р. Каграманов, 2011; М.Г. Смарагдов и др., 2013).

Использование геномной селекции на практике началось с 2009 года. Фирма «Нуро» стала первой генетической компанией в мире, которая в полной мере использует геномную селекцию в программе племенного разведения свиней, что дает возможность существенно повысить точность селекции. «Нуро» имеет возможность регулярно поставлять своим клиентам племенное поголовье, отобранное на основании анализа индексов геномного потенциала. В сотрудничестве с Научно-Техническим Центром «Хендрикс Дженетикс» «Нуро» успешно внедрил геномную селекцию в производство. Геномная селекция дает возможность с высокой точностью прогнозировать гены каждой свиньи и

результаты проявления этих генов при использовании животного для племенного разведения (Г.В. Комлацкий, 2014).

Данная технология, безусловно, является мощным инструментом для использования в ближайшем будущем. Сдерживающими факторами развития методов геномной селекции являются разнонаправленные взаимодействия между QTL, их изменчивость у различных пород, влияние внешней среды на хозяйственно ценные признаки животных (В.И. Щербатов и др., 2014). Тем самым подтверждается актуальность всестороннего изучения данных взаимодействий, биологических особенностей и влияния полиморфизма генов на хозяйственно ценные признаки животных с помощью методов маркерной селекции.

Наибольший эффект от MAS будет реализован только тогда, когда селекционные программы будут адаптированы так, чтобы наилучшим образом использовать крупномасштабное генотипирование для многочисленных целевых признаков и генетического фона. Наибольшие выгоды от этого вида комплексного молекулярно-селекционного подхода должны быть для достижения такого же селекционного прогресса в более краткие сроки, чем с помощью традиционной селекции, и от интеграции комбинаций генов, которые не могут быть скомбинированы с помощью других методов (Н.А. Зиновьева, 2008).

### **2.3. Молекулярно-генетические методы селекции сельскохозяйственных животных**

Современные задачи ускоренной индустриализации животноводства, увеличения объемов производства продукции по отношению к затратам требуют развития новых подходов к управлению генетическими ресурсами животных. В этой связи большие надежды возлагаются на современные достижения в области биотехнологий. Современная биотехнология, основанная на методах

молекулярной биологии, занимает ведущее положение в системе биологических, ветеринарных и зоотехнических исследований (Ю.А. Столповский и др., 2013).

В результате открытия в 1953 году Д. Уотсоном и Ф. Криком структуры дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) — носителя наследственной информации живых существ, описания комплементарности ее организации, стал понятен и объясним принцип наследственности на молекулярном уровне, что явилось основой новой области науки и технологий — ДНК-технологии.

В общем, все методы ДНК-технологии, связанные с созданием новых генных конструкций и на их основе новых организмов, основаны на искусственном воспроизведении процессов, реально существующих в живой природе (механизм естественной репликации ДНК). Исследователи, по сути, не придумывая ничего нового, лишь используют приемы многократно реализованных в процессе эволюции живых организмов — изменчивость, наследственность и отбор (В.И. Глазко и др., 2013).

Последние десятилетия ознаменовались изменением в подходах к совершенствованию сельскохозяйственных животных. Традиционно данные работы включали, как правило, многолетние наблюдения за продуктивными качествами отдельных особей, отбор лучших и использование их в селекции. С развитием ДНК-технологий и накоплением фактического материала стало возможным через оценку генотипа в рамках концепции ген-маркерных признаков изучить все многообразие фенотипических форм и выявить желательные (Т.И. Епишко, 2008).

Наиболее перспективным методом выявления маркеров различных генов оказался метод полимеразной цепной реакции (Polymerase Chain Reaction PCR).

Настоящий переворот в молекулярной генетике произошел с момента открытия, удостоившегося Нобелевской премии (1993), К. Мюллисом и др. в 1986 году метода ПЦР. Как метод исследований ПЦР возникла тогда, когда стали использовать не просто ДНК-полимеразу, а так называемую термостабильную, которая была выделена из термофильной бактерий *Thermusaquaticus* (Taq),

обитающих в горячих источниках, а позднее из биомассы действующих вулканов. Температурный оптимум работы такого фермента находится в области 70–72<sup>0</sup>С (Н.В. Маркин и др., 2010).

В основе метода ПЦР лежит многоступенчатый циклический процесс репликации ДНК. Каждый цикл амплификации ДНК включает три последовательные стадии, протекающие в различных температурных и временных режимах:

- денатурацию (расплетение двойной спирали и расхождение нитей ДНК);
- отжиг праймеров;
- полимеризацию (элонгацию) цепей ДНК.

Переход от одной стадии реакции к другой достигается изменением температуры в инкубируемой смеси. Две образующихся цепи ДНК являются шаблоном для следующего цикла. Таким образом, происходит удваивание количества ДНК в каждом новом цикле. Данный метод обеспечивает многократное увеличение числа копий (амплификацию) специфического участка ДНК, катализируемое ферментом ДНК-полимеразой. Процесс происходит в условиях *in vitro* в циклическом режиме контролируемого молекулярного копирования участков нуклеиновых кислот.

На первом этапе происходит денатурация ДНК при 92–95<sup>0</sup>С, в результате двухцепочечные молекулы ДНК расплетаются с образованием двух одноцепочечных.

На втором этапе происходит отжиг (присоединение праймеров к ДНК-мишени с образованием коротких двухцепочных участков ДНК). Отжиг протекает в соответствии с правилом комплементарности Чаргаффа: в двухцепочечной молекуле ДНК напротив аденина всегда находится тимин, а напротив гуанина – цитозин.

Третий этап – комплементарное достраивание цепей ДНК (элонгация), которое происходит от 5'-конца к 3'-концу цепи в противоположных направлениях, начиная с участков присоединения праймеров. Добавляемые в раствор

дезоксирибонуклеозидтрифосфаты служат материалом для образования новых цепей ДНК. Процесс синтеза катализируется ферментом ДНК-полимеразой. Происходит одновременное копирование ДНК с двух праймеров, комплементарных участкам ДНК на противоположных цепях.

Образовавшиеся в первом цикле амплификации новые цепи ДНК служат матрицами для второго цикла амплификации, в котором происходит образование специфического фрагмента ДНК – ампликона, размер которого ограничен праймерами. Важно, что синтезированные в ходе первого цикла ПЦР цепи ДНК также служат матрицами для второго цикла амплификации. В последующих циклах амплификации ампликоны служат матрицей для синтеза новых цепей. Таким образом, в результате постановки ПЦР происходит накопление ампликонов в реакционном растворе, теоретически в геометрической прогрессии (Н.В. Маркин и др., 2010).

Таким образом, на сегодняшний день метод ПЦР является наиболее точным, информативным и широко применяемым диагностическим методом (В. Stefanon, 2011).

Метод ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестриционных фрагментов) – универсальный метод определения нуклеотидной последовательности ДНК у различных видов живых организмов. На ряду с высокой чувствительности и точностью, данный метод прост в выполнении и не требует наличия дорогостоящего оборудования и высокоспециализированных кадров (К. Chen и др., 2007). Возможность использовать ПДРФ как генетический маркер, была предложена в 1974 г. при исследовании термочувствительных локусов в геноме аденовируса. В дальнейшем, в работах D. Botstein и др. (1980), были представлены теоретические аспекты ПДРФ и детально проработанные методы применения его в качестве маркера полиморфизма определенной нуклеотидной последовательности геномной ДНК. После открытия ПЦР (1993 г.) и синтеза двух подходов, метод ПЦР-ПДРФ приобрел большую популярность и широкую апробацию, в том числе при изучении последовательностей

уникальных генов сельскохозяйственных животных, связанных с экономически значимыми признаками продуктивности.

Метод ПДРФ основан на специфических особенностях определенных групп ферментов (эндонуклеаз рестрикции) катализировать реакцию гидролиза ДНК. В отличие от экзонуклеаз, эндонуклеазы разрезают молекулу ДНК в середине, при этом для каждой рестриктазы имеется свой участок для распознавания, представляющий определенную последовательность из 4-6 нуклеотидов. Соответственно, наличие участков рестрикции и их распределение в изучаемом образце предопределено расположением нуклеотидов в исследуемой геномной ДНК. Для любой точечной мутации, обусловленной заменой нуклеотидов, может быть подобрана рестриктаза, разрезающая последовательность именно в том месте, где необходимо установить наличие или отсутствие мутации. Расщепление анализируемой участка ДНК определенными рестриктазами позволяет получить фрагменты ДНК различной длины, соответствующие расположению участков рестрикции. Визуализация результатов методом электрофореза позволят получить электрофореграммы с изображением длины фрагментов исследуемой последовательности ДНК, на основании которых мутационная изменчивость в участках рестрикции может быть легко установлена. При наличии мутации исследуемый участок не подвергается воздействию рестриктазы и его длина остается неизменной, при отсутствии – рестриктаза разрезает его на соответствующие фрагменты заданной длины. Таким образом, на основании длин рестрикционных фрагментов амплифицированного участка ДНК можно установить полиморфизм исследуемого генетического материала (Н.В. Маркин и др., 2010; К.В. Азарин и др., 2012; А. Usatov и др., 2014).

ПДРФ-маркеры успешно используются для создания молекулярно-генетических карт различных видов растений и животных, сбора сведения о генетическом разнообразии различных организмов, определения связи с хозяйственно полезными признаками и возможностями применения в селекционной работе по совершенствованию и созданию отечественных

генетических ресурсов сельскохозяйственных растений и животных (P. Vos 1995; Г.В. Максимов и др., 2012; Н.В. Михайлов и др., 2013; M. Stachowiak и др., 2014).

Одним из важных направлений ДНК-технологий является картирование геномов сельскохозяйственных животных. С 90-х годов 17 лабораториями из 9 стран реализуется программа картирования генома свиньи (ПигМеп), несколько позже запущена аналогичная программа по геному крупного рогатого скота, в ее участии принимает 30 лабораторий из 13 государств. В США финансируется национальный проект по картированию геномов КРС, свиньи, овцы, курицы. Новая Зеландия активно разрабатывает программу по картированию генома овцы (C. Smith и др., 1986; M. Soller и др., 1986; Н.В. Маркин и др., 2010; К.В. Азарин и др., 2012).

По мнению Н.М. Белоноговой (2014) картирование генов - это определение положения данного гена на какой-либо хромосоме относительно других генов. Существует два подхода к картированию генов: тестирование генов-кандидатов и полногеномное сканирование. В обоих случаях в исследуемой выборке должны быть определены и протестированы генотипы. При анализе генов-кандидатов тестируются аллели тех генов, которые предположительно участвуют в контроле признака. При полногеномном сканировании проверяются тысячи позиций в геноме, по которым существует разнообразие в популяции и генотипы которых могут быть определены у особей в выборке (генетические маркеры). Маркер может быть физически сцеплен с мутацией, если располагается очень близко на той же хромосоме. В этом случае аллели маркера преимущественно наследуются вместе с мутацией и неслучайно распределяются у особей с мутантным фенотипом (Н.М. Белоногова, 2014).

Расстояния на генной карте измеряется в сантиморганах (сМ), что соответствует примерно одному миллиону п.о. У млекопитающих расстояние между двумя событиями кроссинговера составляет примерно 20 сМ и для характеристики единицы карты такой длины будет достаточно одного маркера. По мнению В.И. Глазко и др. (2013) генетические генные карты представляют

собой систему ориентации отдельных участков наследственной информации в геноме.

К главным задачам картирования относятся: изучение положения локуса гена на конкретной хромосоме; определение генетического расстояния между генами, расположенными на одной хромосоме; выявление полиморфизма генов, т. е. всех аллельных вариантов; определение нуклеотидной последовательности генов, распределения в них интронов и экзонов, а также межгенетических последовательностей (Г.Е. Сулимова и др., 2006).

В результате экспериментов по картированию QTL могут быть выявлены гены, определяющие проявление признака (К. Chen и др., 2007).

#### **2.4. Перспективные гены-маркеры продуктивности свиней**

На сегодняшний день накоплен опыт в выявлении полиморфизма племенных животных по генам, связанным с хозяйственно полезными признаками. Следует отметить, что также выявлены и такие гены-маркеры, влияние полиморфизма которых считается универсальным, т.е. характер влияния их аллельных вариантов не зависит от породной, либо линейной принадлежности свиней.

Одной из главных задач каждого свиноводческого хозяйства является интенсивное использование основных свиноматок (Н.В. Михайлов, Л.В. Гетманцева, 2012). От них можно получать в год два, и более опоросов и иметь к отъему на каждую свиноматку 18-20 поросят. Интенсификация отрасли и повышение её рентабельности во многом определяется увеличением многоплодности, сохранностью поросят, интенсивностью выращивания ремонтных свинок для достижения живой массы 125–140 кг к осеменению (В.Д. Кабанов, 2003). При простом воспроизводстве структура стада в течение года не изменяется. При расширенном воспроизводстве предусматривается включение в

состав стада большего количества поголовья в сравнении с выбывающим из стада. На промышленных фермах и комплексах с безвыгульным содержанием проводится интенсивная выбраковка маток, и поэтому среднее использование свиноматок обычно не превышает 4-5 опоросов (Н.В. Михайлов, О.Л. Третьякова, 2007).

Зарубежные страны, в частности Дания, стала первой страной, использующей информацию ДНК в программах разведения. В настоящее время во многих свиноводческих предприятиях зарубежья для интенсификации отрасли используют геномную информацию, в результате чего, темпы роста продуктивности в таких хозяйствах увеличивается на 20% (Н.А. Зиновьева и др., 2011).

Результатом изучения локусов количественных признаков QTL стала разработка систем анализа ряда ДНК-маркеров хозяйственно полезных и селекционно важных признаков продуктивности животных актуальных для свиноводства (M. Rothschild, 2003; O. Distl и др., 2001; A. Spötter и др., 2009).

К маркерам многоплодия относят ген лейкемия-ингибирующего фактора (LIF), эстрогенового рецептора (ESR), ядерного коактиватора A1 (NCOA1), муцина 4 (MUC4), фолликулостимулирующего гормона бета-субъединицы (FSHb), рецептора фолликулостимулирующего гормона (FSHR), рецептора пролактина (PRLR), рецептора эритропоэтина (EROR), риноидинового рецептора 1 (RYR1), и т.д. (S. Kamiński и др., 2002; A. Spötter и др., 2006; M. Rothschild и др., 2007; О.Н. Костюнина и др., 2008, 2010; С.Н. До и др., 2012).

К маркерам энергии роста и состава туш относят гены гипофизарного фактора транскрипции 1 (POU1F1), инсулиноподобного фактора 2 (IGF2), рецептора меланокортина 4 (MC4R), белка, связывающего жирные кислоты H-FABR, рецептора лептина (LEPR) и др. (M. Pierzchała, 2003; J. Kim и др., 2009; Н.А. Лобан и др., 2009; H. Jankowiak, 2010; Г.В. Максимов, Л.В. Гетманцева и др., 2011, 2012; О.В. Костюнина и др., 2012; S.M.A. Ghaly и др., 2014).

Продуктивность и совершенствование племенного и пользовательного поголовья во многом зависит от воспроизводительной способности свиней. Прямая селекция на плодовитость характеризуется низкой эффективностью из-за большого влияния на этот признак факторов внешней среды, а также ограниченного полом проявления. Коэффициент наследования многоплодия и числа живых поросят при рождении у свиней составляет 0,1 (А. Spötter и др., 2005). Поэтому, необходимо включать в традиционные программы селекции генетическое тестирование плодовитости свиней с использованием указанных генов-маркеров. Так, по результатам Н.А. Зиновьевой (2008) на основании тестирования генетического профиля свиней различных пород по генам ESR (1493 гол., 41 популяция), NCOA1 (733 гол., 19 популяций) и EPOR (579 гол., 4 популяции) получены данные, которые показывают, что свиньи с предпочтительными генотипами по названным генам, превосходили особей с нежелательными генотипами по многоплодию в среднем на 0,5-1,5 поросенка (Н.А. Зиновьева, 2008).

Репродуктивные функции свиноматок описываются многими признаками, наиболее значительными является размер гнезда, то есть, количество поросят, родившихся и выросших в помете, которые имеют непосредственное влияние на рентабельность производства свинины (А. Spötter, 2003). Размер гнезда является одним из важнейших показателей в свиноводстве, а увеличение количества поросят, получаемых от свиноматки, увеличивает эффективность отрасли. Проявление этого признака ограничено полом, но использование ДНК-маркеров в программах селекции позволяет вести отбор не только маток, но и хряков (М. Rothschild, 2003).

На сегодняшний день большой интерес представляет ген лейкемия-ингибирующего фактора (LIF) как потенциальный генетический маркер воспроизводительных качеств свиней (А. Spötter, 2003; D. Napierała и др., 2014).

Лейкемия-ингибирующий фактор (LIF) представляет собой многофункциональный цитокин. Благодаря своим функциям в регулировании

воспроизводительных показателей, ген LIF рассматривается как ген-кандидат плодовитости у многих видов млекопитающих, включая свиней (С. Stewart и др., 1992; J. Yelich и др., 1997; Vogliagis и Salamonsen, 1999; Л.М. Межевикина, 2011; М.М. Левиашвили и др., 2012). Имеются данные об использовании рекомбинантного LIF в питательных средах для выращивания эмбрионов человека с целью повышения частоты успешных протоколов экстракорпорального оплодотворения (М. Mikołajczyk, 2011; М.М. Левиашвили и др., 2012).

LIF оказывает влияние на выживаемость клетки, что имеет особенное значение в процессе имплантации эмбриона. Свою регулирующую функцию указанный цитокин начинает с развития гамет и заканчивает наступлением беременности. Механизм своего действия LIF осуществляет путем связывания с двумя рецепторами: лейкомиа-ингибирующий специфический рецептор (LIF-SR), связь с которым обеспечивает функции LIF и мембранный рецептор gp130, который является рецептором для родственных ему цитокинов IL-6, IL-11, онкостатина-М и др. (М.М. Левиашвили и др., 2012).

Потенциальными индукторами синтеза LIF являются интерлейкин -1 (IL-1), фактор некроза опухоли (TNF), эпидермальный фактор роста (EGF), трансформирующий фактор роста (TGF) (Л.М. Межевикина, 2011).

В экспериментах на мышах ученым удалось доказать, что экспрессия LIF в эндометрии является необходимой для имплантации эмбриона. Исследования С. Stewart и др. (1992) показали, что у самок мышей с нокаутированным геном LIF овуляция и созревание яйцеклеток происходила в нормальном режиме, но животные были не способны к имплантации эмбриона. При переносе бластоцист от указанных особей в матку самок с достаточной экспрессией гена имплантация происходила нормально. При введении в эндометрий самкам с инактивированным геном LIF рекомбинантного аналога, процесс имплантации восстанавливался. Проведенные исследования доказали значение гена LIF в репродуктивном тракте самок мышей для успешного процесса имплантации.

Было обнаружено, что LIF *in vitro* поддерживает эмбриональные стволовые клетки в недифференцированном состоянии, ингибируя их дифференциацию, но, не влияя на пролиферацию клеток. Таким образом, выяснилось, что LIF является первым протеином, способным влиять на фенотип эмбриональных клеток. Было выявлено, что LIF и РНК продуцируется бластоцистой, а также в желточном мешке эмбрионов (М.М. Левиашвили и др., 2012).

Группой исследователей изучена взаимосвязь между экспрессией LIF, его рецепторами, а также морфологическим маркером восприимчивости матки к имплантации бластоцисты. В результате многочисленных исследований ген LIF был выделен как наиболее перспективный маркер оценки способности матки к имплантации эмбриона (М. Králíčková и др., 2006; Z. Novotný, 2009; Л. М. Межевикина, 2011; М.М. Левиашвили и др., 2012).

Ген LIF у свиней локализован в хромосоме 14q21-q22 (А. Spötter и др., 2001) в пределах доверительного интервала QTL, связанного с количеством поросят при рождении и многоплодием. Он охватывает около 6,3 кб и состоит из пяти экзонов, в том числе трех альтернативных экзонов (1D, 1M, 1T), сращенных на общем втором и третьем экзоне. Наиболее часто представлен как транскрипт LIF-Дм РНК, который имеет размеры 3,9 т.п.н.. Полученный первичный пептид состоит из 202 аминокислот. SNP гена LIF (6988 С→Т, Gen Bank асс. по. AJ296176) установлен в 3 экзоне, который может быть определен методом ПЦР-ПДРФ (А. Spötter и др., 2003).

При анализе отечественных источников литературы нами не было найдено данных по изучению продуктивных качеств свиней с использованием гена - маркера лейкомиа-ингибирующего фактора (LIF), но имеются результаты исследований зарубежных ученых на различных породах свиней.

В исследованиях, проведенных в Германии на синтетической линии свиней была обнаружена ассоциация полиморфизма гена LIF с воспроизводительными качествами (С. Drogemüller и др., 2001; А. Spötter и др., 2003; Н. Hamann, and О. Distl, 2005). SNP был расположен в 3'-нетранслируемой области третьего экзона

гена свиного LIF. А. Spötter и др. (2005) исследовали 273 свиноматки, в анализе использовали данные о количестве поросят, рожденных живыми. Был проанализирован также возможный плейотропный эффект маркера на рост, фитнес и толщину шпика. В исследуемой популяции были установлены все три генотипа AA, BB, AB. Частоты генотипов были распределены следующим образом: аллель А - 0,27 и В - 0,73. Было указано на совокупный эффект с числом поросят, родившихся живыми, и доминирующий эффект аллеля В ( $p = 0,044$ ). Эффект доминирования составил  $-0,73 \pm 0,36$  ( $P = 0,047$ ).

Ген рецептора пролактина (PRLR) выступает в качестве перспективного маркера плодовитости свиней. PRLR является рецептором гормона передней доли гипофиза – пролактина, который в организме млекопитающих участвует в процессах регуляции роста, метаболизма и размножения (А. Ziółkowska, 2010). Ген PRLR у свиней картирован в хромосоме 16 (SSC16), и его AluI полиморфизм обуславливает наличие трех генотипов AA, BB и AB.

В исследованиях А. Vincent и др. (1997) было изучено влияние полиморфизма гена PRLR в пяти различных синтетических линиях свиней - крупной белой, ландрас, дюрок и помесей крупная белая х мейшан. Было найдено, что генотип по локусу PRLR статистически достоверно влияет на общее количество поросят, многоплодие в трех из пяти исследованных линиях. В синтетической линии крупной белой породы (400 свиноматок, 1197 опоросов) животные с генотипом AA имели в среднем на 0,66 поросенка больше, чем животные с генотипами AB и BB. Наибольшее влияние полиморфизма гена PRLR было обнаружено в синтетической линии породы ландрас – разница между генотипом AA и BB составила более одного поросенка на опорос.

В результате изучения воспроизводительных качеств свиноматок крупной белой породы отечественной селекции Л.В. Гетманцевой (2013) было установлено, что свиноматки генотипа AB, относительно животных генотипа AA отличались лучшими показателями по количеству поросят при рождении и количеству живых поросят в гнезде на 2,0 и 1,7 гол., соответственно. Отмечено

также, что свиноматки генотипа ВВ по количеству живых поросят в гнезде имели некоторое превосходство (0,14 гол.) над животными генотипа АВ. Таким образом, желательным генотипом был определен ВВ/PRLR.

Особый интерес в свиноводстве представляет своевременная диагностика стресс-чувствительности и отбора животных устойчивых к стрессам. Появление у свиней данного порока обусловлено интенсивной селекцией на мясные качества. При стрессовой чувствительности характерна повышенная смертность поросят, а также ухудшение качественных показателей мяса (PSE-мясо).

В селекционных программах стран Европейского союза осуществляется обязательный контроль племенных свиней на наличие аллеля гена чувствительности к стрессу RYR1 (особенно материнских пород), на основании которого разрабатываются рекомендации по его рациональному использованию в племенном и товарном свиноводстве. Зарубежными учеными установлено, что чувствительность к злокачественной гипертермии у свиней вызывается точковой мутацией С→Т в позиции 1843 гена рианоидинового рецептора RYR1, приводящей к аминокислотной замене Arg→Cys в позиции 615. Открытие данной мутации позволило разработать молекулярно-генетический тест, позволяющий четко идентифицировать генотипы свиней (NN – стрессоустойчивые носители, Nn – стрессоустойчивые скрытые носители, nn – стрессочувствительные носители) (Н.А. Лобан, А.С. Чернов, 2008; Н.А. Зиновьева, 2008).

На основании анализа ученых Центра биотехнологии и молекулярной диагностики ВНИИ животноводства, которые протестировали 1860 голов свиней (29 популяций) на наличие мутации по гену RYR1 установлено, что у свиней пород крупная белая, йоркшир и дюрок, стресс-чувствительный аллель, как правило, не встречается, а наибольшая частота, по их мнению, характерна для пород пьетрен и ландрас (Н.А. Зиновьева, 2008).

Хорошо изучено влияние гена ESR на воспроизводительные качества свиней. Ген ESR кодирует альфа рецептор гормонов эстрогенов, которые участвуют в регуляции полового развития, гаметогенеза, роста и поддержания

скелета. Для свиней крупной белой породы (КБ) желательным по воспроизводительным качествам был установлен генотип ВВ, в то же время у свиней породы ландрас гомозиготный генотип ВВ встречался редко и в качестве желательного выступал генотип АА (R. Van, D. Van, 2002; О.Н. Полозюк и др., 2014).

В своем сообщении Н.А. Лобан (2011) указывает, что при исследовании свиней крупной белой и уржумской пород установлено положительное влияние генотипа ВВ по гену ESR. Наличие данного генотипа у свиноматок, по сравнению с аналогами генотипа АА, обеспечило лучшие показатели по многоплодию на 0,9 поросенка. Выявлено, так же, что свиноматки указанных пород с желательным генотипом ВВ/ESR превосходили аналогов генотипа АА/ESR в среднем по размерам гнезда на 0,7-1,4 и 1,3 поросенка, соответственно. Аллель В, желательный при селекции на плодовитость, и, в частности, на многоплодие, английская крупная белая порода получила от китайской многоплодной породы мэйшан в 19 веке в процессе ее создания. В дальнейшем аллель В перемещался во все вновь создаваемые породы свиней с участием крупной белой (Н.А. Лобан, 2011).

Механизм генетического влияния эстрогенового рецептора ESR на проявление признака продуктивности свиноматок по многоплодию заключается в контроле выработки женского полового гормона – эстрогена, который определяет воспроизводительные качества. Животные с генотипом АА имели гипофункцию, а ВВ – гиперфункцию выработки эстрогена, в гетерозиготном варианте АВ его выработка имела среднее значение (А.Р. Каграманов, 2011).

Одним из перспективных генов-кандидатов, участвующих в регулировании энергетического гомеостаза, большой интерес представляет меланокортиновый рецептор-4 (MC4R). Однонуклеотидная замена в седьмом экзоне гена MC4R приводит к нарушению проведения гормонального сигнала лептина через рецептор меланокортина и, тем самым, влияет на признаки, определяющие откормочную и мясную продуктивность животного (К. Kim и др., 2000; С. Li и

др., 2006; О.В. Костюнина и др., 2012; Г.В. Максимов, Л.В. Гетманцева 2011, 2012; Н.В. Широкова и др., 2014; Klimentko и др., 2014).

По литературным данным, биологической особенностью MC4R является контроль пищевого поведения. В гене рецептора меланокортина-4 обнаружена мутация, которая заставляет свиней есть больше (около 10%), расти быстрее (6-8%), и набирать большую живую массу (6-10%). Механизмы этого действия до конца не раскрыты, но на сегодняшний день считается, что в результате мутации в гене MC4R происходит нарушение проведения гормонального сигнала лептина (W. Pang и др., 2006; M. Szyndler-Nędza, 2010; Г.В. Максимов, Л.В. Гетманцева, 2011; Л.В. Гетманцева, 2012; О.В. Костюнина и др., 2012).

У свиней ген MC4R локализован в хромосоме 1 (SSC1). Последовательность гена MC4R была представлена в Gen Bank под регистрационным номером AF087937. Полиморфизм MC4R определяли в позиции 1426. Анализ последовательности при помощи рестриктазы TaqI показал однонуклеотидную замену G→A (K. Kim. и др., 2000; H. Park, 2002; Л.В. Гетманцева, 2012).

По результатам исследования Л.В. Гетманцевой и др. (2012) гена MC4R на свиньях крупной белой породы отмечено, что особи гомозиготного генотипа AA гена MC4R отличались лучшими среднесуточными привесами, но и большей толщиной шпика, в сравнении с животными генотипа GG. Свиньи генотипа GG, были менее скороспелы, но при этом отличались лучшими мясными качествами.

Значительную роль в регуляции энергетического гомеостаза любого организма, играет жировая ткань, действуя как эндокринный орган. Считается, что в результате мутации в гене MC4R происходит нарушение проведения гормонального сигнала лептина. Многие исследователи указывают на сильную связь между нейронным влиянием и выражением адипоцитов и секреции лептина. Лептин стимулирует выработку гонадотропных гормонов, необходимых для нормального функционирования репродуктивной функции, действуя централизованно на гипоталамус и регулируя гонадотропин-рилизинг гормон

(ГнРГ) активность нейронов и секрецию. Влияние лептина на нейроны, секретирующие проопиомеланокортин (ПОМК), приводит к подавлению экспрессии нейропептида Y, опосредуя свое действие через  $\alpha$ -меланоцитстимулирующий гормон и меланокортиновые рецепторы 4-го типа (И.К. Лядский и др., 2011; J. Nowacka-Woszuk, 2012; Л.В. Гетманцева, 2012; А.В. Усатов и др., 2015).

Бесплодие, связанное с питанием индуцированным ожирением или центральной лептинорезистентностью, вероятно, опосредуется через ГнРГ пути. Кроме того, лептин регулирует репродуктивную функцию, изменяя чувствительность гипофиза к ГнРГ и действуя в яичнике, регулирует фолликулярный и лютеиновый стероидогенез. Таким образом, лептин служит предполагаемым сигналом, который связывает статус метаболизма с репродуктивной осью (А. Klimentko и др., Л.В. Гетманцева и др., 2014; М.А. Леонова, 2014).

Анализ литературных источников показал, что популяционно–генетическим анализом при генотипировании свиней на носительство мутации в гене меланокортинового рецептора 4 (MC4R) накоплены определенные данные по различным породам. Однако практически все работы посвящались изучению откормочных и мясных качеств, в то время как данных по воспроизводительным качествам животных разных генотипов по гену MC4R имеется очень мало. Биологическая роль рецептора меланокортина-4 предполагает, что полиморфизм гена MC4R может быть важным генетическим маркером как для откормочных и мясных качеств свиней, так и для воспроизводительных.

Исследования, проведенные Ф.М. Нургалиевым (2013) на свиноматках крупной белой породы показали превосходство свиноматок с аллелем В гена MC4R, относительно животных генотипа АА, которые отличались лучшими показателями по многоплодию (на 0,33-0,60 поросёнка) и количеству поросят при рождении (на 0,36-0,54 поросёнка) в среднем на одну свиноматку.

Таким образом, учитывая биологические особенности гена MC4R можно заключить, что данный ген способен оказывать влияние на репродуктивные качества свиней.

Мутация в гене фолликуло-стимулирующего гормона бета-субъединицы (FSH $\beta$ ) приводит к изменению аминокислотной последовательности гормона, что и определяет функциональные особенности данного гена. Гетманцевой Л.В. и др. (2013) установлено, что свиноматки с желательным генотипа ВВ достоверно превосходили аналогов генотипа АВ по количеству поросят при рождении на 2,12 гол., многоплодию на 1,9 гол. и массе гнезда при рождении на 2,05 кг.

Высокая мясная продуктивность свиней – показатель, к которому стремятся все без исключения производители свинины. Главная задача – добиться получения высоких характеристик по этому показателю в максимально короткий срок уменьшая затраты на ее достижение (В.Д. Кабанов, 2010).

В повышении продуктивных качеств, большой интерес представляет ген инсулиноподобного фактора-2 (IGF-2), оказывающих влияние на энергию роста и мясность туш свиней (О.В. Костюнина, 2008; Н.А. Лобан и др., 2009; Л.В. Гетманцева, 2012). Замена нуклеотидов, обуславливающая полиморфизм гена, расположена в 3-ем интроне. Аллели Q и q IGF-2 диагностировали в позиции 3072. Л.В. Гетманцева (2012) в своих исследованиях в качестве желательного генотипа установила QQ/IGF-2, наличие которого, относительно свиней генотипа qq было связано с лучшей скороспелостью на 6,0 дней, среднесуточным приростом на 59,5 г, а также меньшей толщиной шпика на 1,7 мм и затратам корма на 0,1 к.ед.

Ген гипофизарного фактора транскрипции (POU1F1), является регулирующим фактором передней доли гипофиза, который участвует в регуляции экспрессии генов гормона роста, пролактина и тиреотропного гормона (Л.В. Гетманцева, 2012). У свиней ген POU1F1 локализован в 13 хромосоме в третьем интроне (Gen Bank no. acc. AJ511270). При изучении полиморфизма гена POU1F1 и его влияния на продуктивные качества свиней были установлены

ассоциации с признаками откормочной и мясной продуктивности (М. Pierzchała и др., 2003; Л.В. Гетманцева, 2012). Точечная мутация в указанном гене приводит к образованию двух аллелей – С и D. На сегодняшний день, мнения ученых относительно желательного генотипа по гену POU1F1 имеют некоторые расхождения. В результате исследований Л.В. Гетманцевой (2012) для свиней крупной белой породы отечественной селекции по откормочным качествам желательным установлен генотип СС, наличие которого, относительно животных генотипа DD было связано с лучшими показателями по скороспелости на 8,9 дн., среднесуточным приростам на 151 г, и меньшим затратам корма на 0,24 к.ед. (Л.В. Гетманцева, 2012).

Ген рецептора лептина (LEPR) локализован в хромосоме 6 и имеет влияние на откормочные качества и контроль потребления пищи у свиней. Лептин является белком, деятельность которого опосредуется через ген рецептора лептина (LEPR). Обнаружена связь подключения не синонимической мутации р.Leu663Phe с аппетитом и, следовательно, с образованием жировой ткани (J. Kurył, 2006).

По мнению А. Chmurzynska и др. (2006) биологическая особенность гена H-FABP заключается в кодировании белков, участвующих в липидном обмене, основной функцией которых, является связывание длинных цепочек жирных кислот. В результате липидного обмена происходит жиросотложение между волокнами мышечной ткани, что способствует увеличению мраморности мяса. Н. Jankowiak и др. (2010) утверждают, что применение гена-маркера H-FABP в селекции свиней и отбор производителей с желательными генотипами HH и dd обеспечит повышение массы задней трети полутуши у потомков на 0,3–0,5 кг, а также снижение толщины шпика на 0,6 мм.

Полиморфизм гена  $\gamma$ -субъединицы протеинкиназы А (PRKAG3), SNP которого расположен в локусе 199V и R200Q и оказывает влияние на качественные показатели мяса свиней (уровень гликогена в мышцах, влагоудерживающая способность, цвет, pH). ДНК-маркер PRKAG3 широко

используют для выявления дефектов технологического качества, связанных с генетической аномалией RN- (синдром «кислое мясо»), обусловленное наличием аллеля Q в позиции 199 (Н.А. Зиновьева, 2008). По данным А.Н. Левитченкова (2009) результаты анализа частот аллелей и генотипов RN-гена в позиции 199 показали, что из трех исследованных пород желательный генотип II был выявлен только у свиней породы дюрок. В этой же группе свиней отмечалась максимальная частота желательного аллеля I - 0,298. У свиней пород крупная белая и ландрас генотип II выявлен не был, а частота аллеля I составила, 0,150 и 0,140, соответственно

Перечень информативных ДНК-маркеров постоянно расширяется. Основываясь на сведениях, взятых из мировой литературы, подбирают потенциальные гены-кандидаты для применения в селекции свиней. Для перспективных ДНК-маркеров разрабатываются тест-системы и проводятся экспериментальные исследования на больших выборках животных различных пород в ряде хозяйств с целью определения взаимосвязи генотипов таких генов с показателями продуктивности. Если результаты таких исследований будут успешны, то протестированные гены-маркеры рекомендуются для использования (Н.А. Зиновьева, 2008).

Селекционные программы, предусматривающие использование ДНК-маркеров, реализуются в несколько этапов. На предварительном этапе проводится анализ генетического потенциала стада и определяются селекционные критерии по каждой группе животных. Первый этап предусматривает тестирование основных хряков и ремонтных хрячков по комплексу ДНК-маркеров. На втором этапе проводится анализ свиноматок первого-второго опороса по стрессовой чувствительности (только для мясных пород) и плодовитости (по генам FSHb, PRLR, ESR и др.). Анализу на стрессчувствительность, состав туши и качество мяса рекомендуется подвергать хряков, используемых для получения F<sub>2</sub>. Третий этап – подбор пар для скрещивания с учетом показателей ДНК-генотипирования по воспроизводительным качествам. Четвертый этап – анализ ремонтного

молодняка, полученного от скрещиваний на предыдущем этапе, с целью отбора животных с желательным генотипом. Применение такого подхода обеспечивает наличие в основной группе хряков с желательными генотипами по генам стресс-чувствительности, многоплодия, составу туши и качеству мяса. Их использование в дальнейшем позволит повышать долю желательных генотипов в основном стаде, что, в свою очередь, обусловит повышение продуктивности поголовья и повышение эффективности производства продукции свиноводства (Н.А. Зиновьева, 2008).

С учетом вышеизложенного можно прийти к выводу, что маркерная селекция получила распространение в отечественной селекционной практике недавно и со значительным отставанием относительно иностранных производителей свиноводческой продукции. Масштабы применения ДНК-маркеров в селекции свиней в нашей стране очень ограничены и серьезно уступают опыту зарубежных стран, где ежегодно тестируется значительное поголовье сельскохозяйственных животных, как в коммерческих, так и в научных целях.

Учитывая актуальность и своевременность подобных исследований, важной задачей является дальнейшее совершенствование, широкая практическая апробация и внедрение комплексной системы генетической оценки животных с помощью ДНК-маркеров. Это позволит повысить точность определения племенной ценности животных, уменьшить интервал между поколениями и значительно повысить эффективность селекционно-племенной работы (Н.А. Зиновьева, 2008).

### **3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1. Зоотехнические исследования**

Молекулярно-генетические исследования, а также обработка полученных результатов, проводились в лаборатории молекулярной диагностики и биотехнологии с.-х. животных Донского ГАУ, п. Персиановский.

Объектом исследования явились свиньи пород ландрас, крупная белая и дюрок ЗАО «Племзавод-Юбилейный» Тюменской области с 2012 по 2015 гг. Схема исследования приведена на рис.1.

В ЗАО «Племзавод-Юбилейный» внедрены современные технологии содержания животных и организована поточная технология производства свинины. Племзавод имеет устойчивую кормовую базу. С целью создания наиболее благоприятных условий для селекции свиней специализированных линий и согласно требованиям системе разведения на комплексе «Юбилейный» в 2007 году был создан селекционно-генетический центр «Лозовое». Центр рассчитан на 2000 свиноматок, от которых в течение года получают 37 тыс. поросят, в т.ч. 11 тыс. голов племенного и ремонтного молодняка, из которых 2,5 тыс. голов идут на комплектование основного стада свинокомплекса и 8,5 тыс. голов для реализации. В нем использованы современные технологии производства.

Научно-информационное обеспечение селекционно-племенной работы на племзаводе осуществляется по средствам компьютерной программы АСС фирмы «Селиком» г. Рязань. Информацию о собственной продуктивности свиноматок брали из базы данных компьютерной программы АСС.

Общая характеристика воспроизводительных качеств свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса без учета влияния генетических факторов, представлена в таблице 1, средние показатели откормочных и мясных качеств в таблице 2.

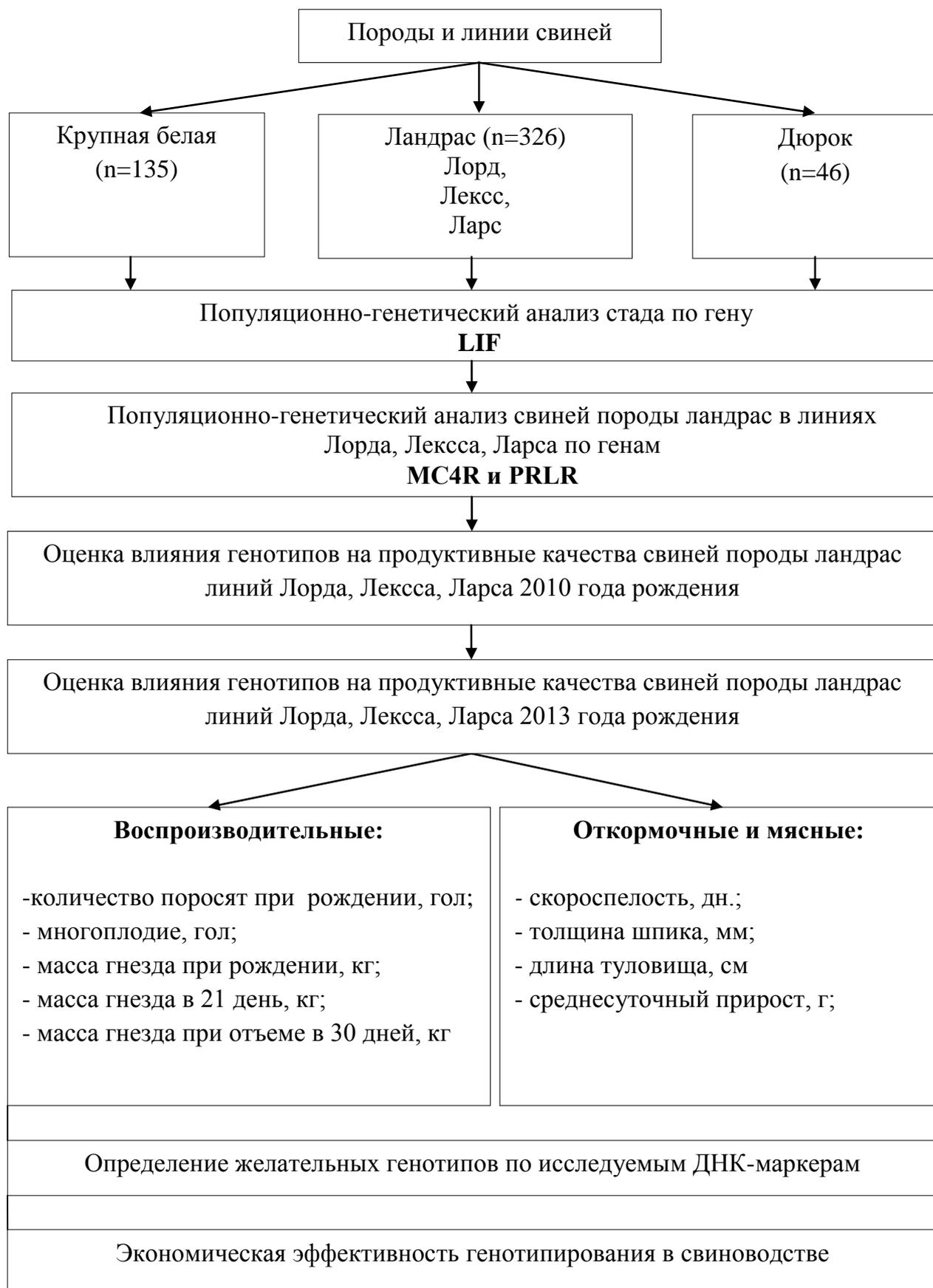


Рис.1. Схема исследований

Экспериментальные исследования по изучению влияния генотипов генов LIF, MC4R и PRLR на продуктивные качества свиней проводили на базе селекционно-генетического центра «Лозовое» ЗАО «Племзавод-Юбилейный» Тюменской области в два этапа.

I. На первом этапе для анализа были отобраны свиноматки 2010 года рождения породы ландрас из трех линий Лорда (n=29), Лексса (n=21) и Ларса (n=13). По результатам генотипирования в каждой линии были сформированы группы животных с учетом генотипов по генам LIF (AA, AB, BB), MC4R (AA, AG, GG) и PRLR (AA, AB, BB). Воспроизводительные качества оценивали по результатам первых трех опоросов, откормочные и мясные качества – по результатам контрольного выращивания до 100 кг.

II. На втором этапе из этих линий были отобраны свинки 2013 года рождения Лорда (n=116), Лексса (n=93) и Ларса (n=54). По результатам генотипирования были сформированы группы животных с учетом генотипов по генам LIF (AA, AB, BB), MC4R (AA, AG, GG) и PRLR (AA, AB, BB) и на основании данных контрольного выращивания изучали влияние генотипов на откормочные и мясные качества. Для дальнейшей оценки по воспроизводительным качествам отобрали свинок 2013 года рождения линий Лорда (n=21), Лексса (n=18) и Ларса (n=18) от которых в 2014 году получили два опороса, на основании которых провели повторную оценку влияния генотипов гена LIF на воспроизводительные качества свиноматок.

Изучение частот аллелей и генотипов по генам LIF, PRLR и MC4R проводилось на свиньях пород ландрас, крупная белая и дюрок. В анализ было включено: свиней породы ландрас n=326, крупной белой породы n=135 и породы дюрок n=46.

Оценку воспроизводительных качеств продуктивности свиноматок проводили по следующим показателям: количество поросят при рождении, гол.; многоплодие (кол-во живых поросят при рождении), гол.; масса гнезда при рождении, кг; масса гнезда в 21 день, кг; масса гнезда при отъеме в 30 дней, кг.

Анализ откормочной и мясной продуктивности проводили по результатам контрольного выращивания до 100 кг по следующим показателям: скороспелость (возраст достижения массы 100 кг), дн.; среднесуточный прирост, г; длина туловища, см и толщина шпика, мм.

Таблица 1 – Воспроизводительные качества свиноматок породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса

Статистические показатели	Количество поросят при рождении, гол.	Многоплодие, гол.	Масса гнезда при рождении, кг.
Свиньи линии Лорда			
М ± m	14,04 ± 0,44	12,85 ± 0,39	18,58 ± 0,58
Стандартное откл.	2,32	2,04	3,04
Дисперсия выборки	5,39	4,16	9,26
Минимум	10,00	9,50	14,00
Максимум	19,00	17,00	25,00
Свиньи линии Лексса			
М ± m	13,1±0,40	11,9±0,42	17,0±0,59
Стандартное откл.	1,82	1,91	2,71
Дисперсия выборки	3,31	3,63	7,34
Максимум	9,67	8,00	11,67
Минимум	16,33	15,67	22,00
Свиньи линии Ларса			
М ± m	13,9 ± 0,46	12,4 ± 0,45	17,4 ± 0,64
Стандартное откл.	1,73	1,68	2,41
Дисперсия выборки	2,99	2,82	5,79
Максимум	10,33	10,33	14,00
Минимум	18,00	17,00	23,33

Таблица 2 – Результаты контрольного выращивания свинок породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса

Статистические показатели	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свиньи линии Лорда 2010 года рождения				
М ± m	159,25 ± 1,29	11,00 ± 0,28	124,69 ± 0,70	881,50 ± 15,39
Станд. откл.	7,30	1,59	3,97	87,04
Дисперсия выб.	53,29	2,52	15,77	7575,74
Минимум	145,00	8,00	116,00	671,00
Максимум	173,00	14,00	133,00	1040,00
Свиньи линии Лорда 2013 года рождения				
М ± m	165,98 ± 0,94	12,46 ± 0,21	122,69 ± 0,38	774,51 ± 7,26
Станд. откл.	10,25	2,22	4,09	78,81
Дисперсия выб.	105,11	4,93	16,71	6211,12
Минимум	142,00	6,00	111,00	558,00
Максимум	195,00	18,00	132,00	1000,00
Свиньи линии Лексса 2010 года рождения				
М ± m	158,5 ± 1,6	12,4 ± 0,5	127,0 ± 0,7	842,0 ± 23,8
Станд. откл.	7,2	2,3	3,3	109,1
Дисперсия выб.	51,8	5,2	10,7	11893,2
Минимум	144,0	8,0	120,0	677,0
Максимум	172,0	16,0	133,0	1028,0
Свиньи линии Лексса 2013 года рождения				
М ± m	165,4 ± 1,6	14,1 ± 0,3	122,7 ± 0,7	766,9 ± 9,6
Станд. откл.	16,0	2,7	7,1	93,3
Дисперсия выб.	254,7	7,2	49,8	8711,6
Минимум	49,0	8,0	110,0	548,0
Максимум	193,0	25,0	177,0	987,0
Свиньи линии Ларса 2010 года рождения				
М ± m	161,4 ± 2,08	10,9 ± 0,47	122,9 ± 1,08	832,3 ± 22,02
Станд. откл.	7,78	1,75	4,04	82,38
Дисперсия выб.	60,55	3,05	16,29	6786,68
Минимум	152,0	8,0	115,0	718,0
Максимум	180,0	14,0	128,0	1014,0
Свиньи линии Ларса 2013 года рождения				
М ± m	161,0 ± 1,38	11,5 ± 0,33	122,3 ± 0,56	801,1 ± 13,78
Станд. откл.	10,13	2,43	4,12	101,25
Дисперсия выб.	102,58	5,92	16,96	10252,51
Минимум	139,0	6,0	111,0	595,0
Максимум	182,0	17,0	132,0	1013,0

Аналізу подвергались предварительно отобранные образцы ушной раковины свиней площадью 1 см<sup>2</sup> (ушные выщипы). Анализ проводили с использованием молекулярно-генетических методов исследований. Ядерную ДНК животных выделяли из 50 мкг предварительно подготовленной пробы (тонкий срез эпителия из ушной раковины) с использованием набора реагентов «DIAtomTMDNAPrep» (IsoGeneLab., г. Москва) согласно прописи, предоставленной изготовителем.

По результатам анализа определяли наличие и частоту аллелей и генотипов по генам LIF, MC4R и PRLR.

Экономическая эффективность была оценена на основе сравнительного анализа прибыли от реализации молодняка, полученного от свиноматок с различными генотипами. При расчете были учтены расходы на содержание свиноматок в течение всего цикла воспроизводства до отъема гнезда и затраты на ДНК-генотипирование на основе сложившихся рыночных цен по данным 2014 года.

### **3.2. Лабораторные исследования**

ДНК-генотипирование, а также обработку полученных результатов, проводили в лаборатории молекулярной диагностики и биотехнологии с.-х. животных Донского ГАУ. Для определения влияния генов-маркеров на продуктивные качества свиней использовали метод ПЦР-анализа с последующим рестрикционным гидролизом образующихся фрагментов (ПЦР-ПДРФ).

Анализ ДНК и постановку ПЦР проводили согласно общепринятым методикам применения метода ПЦР в животноводстве (Н.А. Зиновьева и др., 1998).

ПЦР-ПДРФ анализ включал несколько этапов:

1. Подготовка пробы из биологического материала.
2. Выделение ДНК из различного биоматериала.

3. Подготовка и постановка ПЦР, амплификация исследуемого участка гена.
4. Проведение ПЦР-ПДРФ - рестрикцию амплифицированного фрагмента гена LIF - рестриктазой DraIII, фрагмента гена PRLR – рестриктазой AluI, фрагмента гена MC4R эндонуклеазой рестрикции TagI в стандартных условиях.
5. Электрофорез в агарозном геле с концентрацией для LIF/DraIII -2,5%, PRLR/Alu-3% MC4R/TagI -2%.
6. Детекция результатов в трансиллюминаторе в ультрафиолетовом свете.

На рисунке 2 представлены участки узнавания рестриктазы LIF/DraIII в ядерной ДНК свиней, которая расщепляет фрагмент 407 п.н. на сайты, 244 п.н. и 166 п.н.

Схема изучения полиморфизма гена LIF/DraIII, MC4R/TagI и PRLR/AluI представлена на рисунках 3,4,5, соответственно.

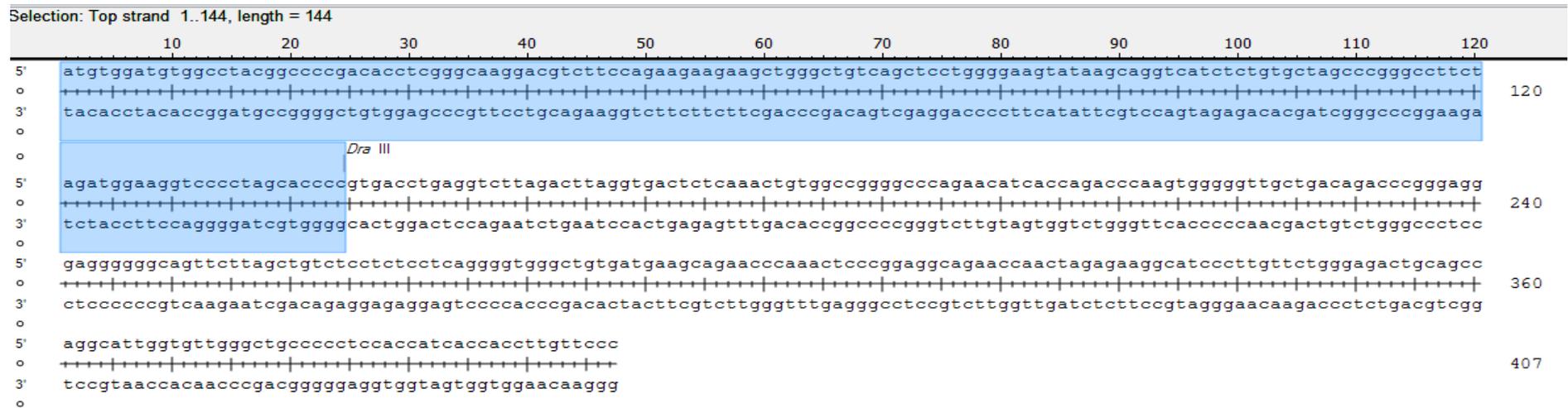
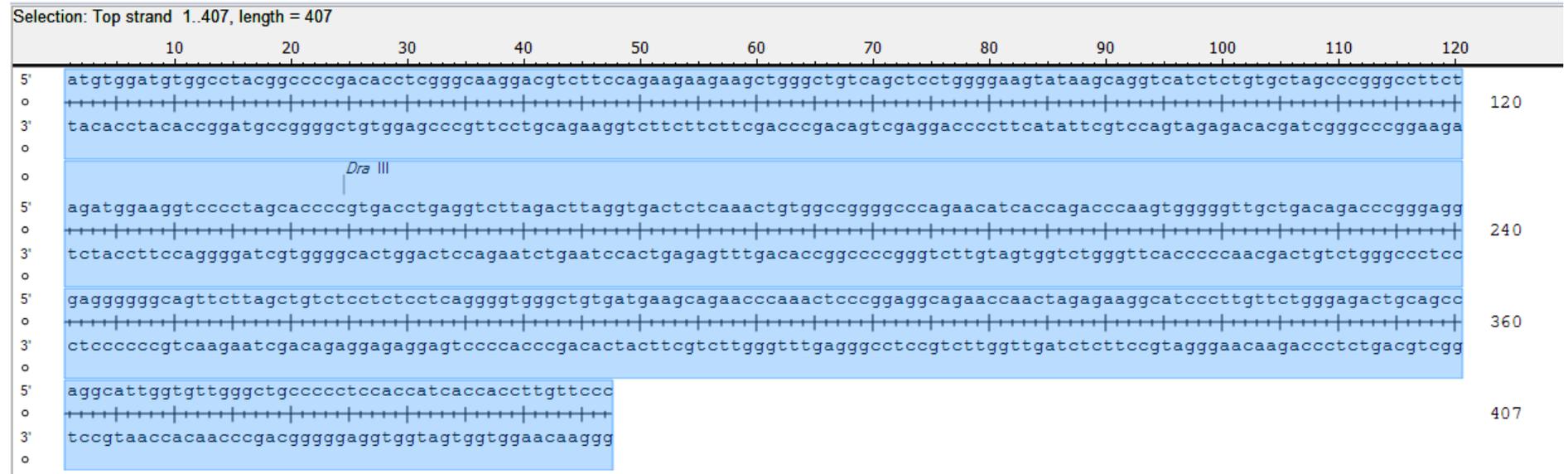


Рис. 2. Участки узнавания рестриктазы *Dra*III (из программы Lasergene (PrimerSelect)).

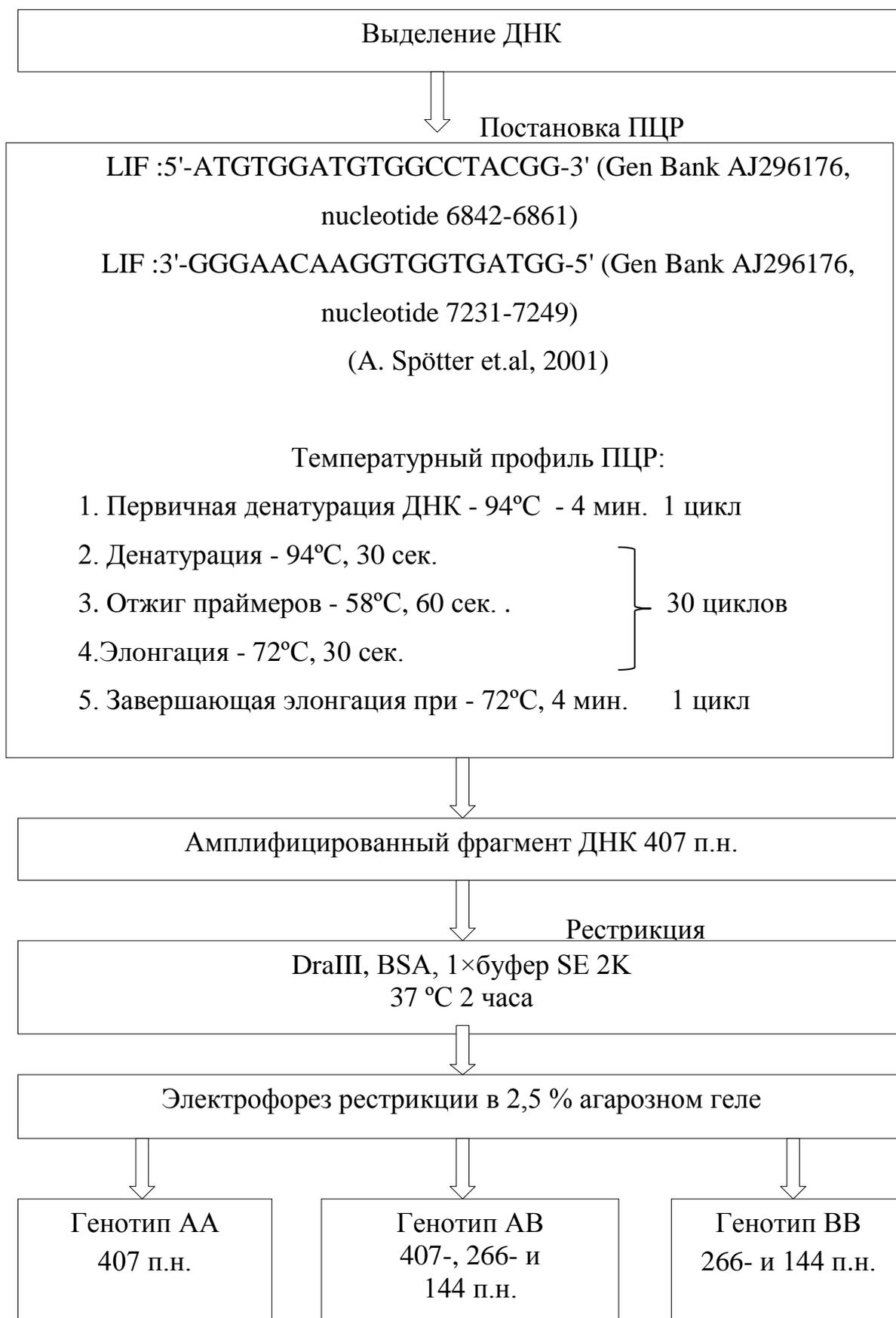


Рис. 3. Схема изучения полиморфизма гена LIF/DraIII

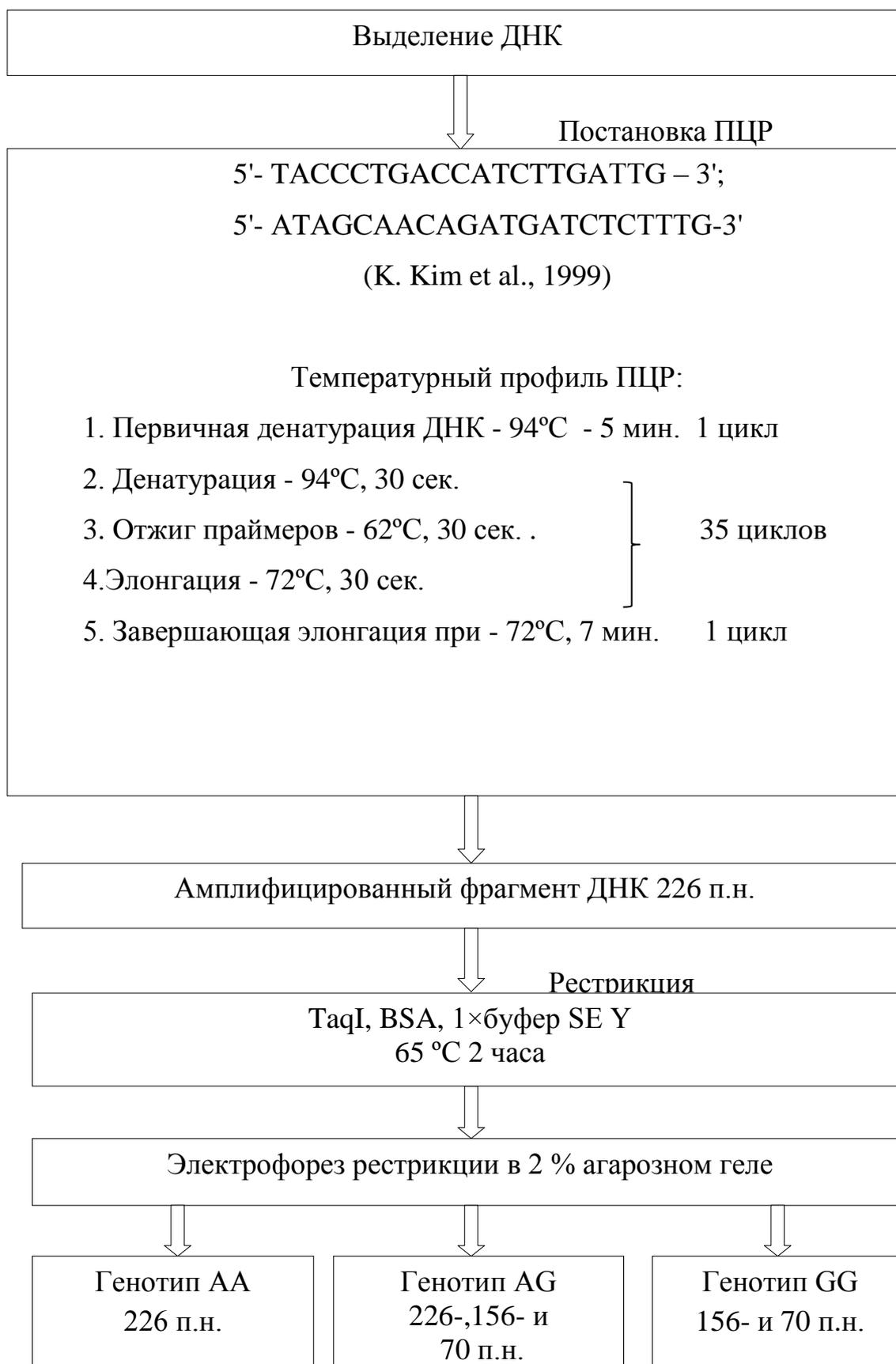


Рис.4. Схема изучения полиморфизма гена MC4R/TaqI

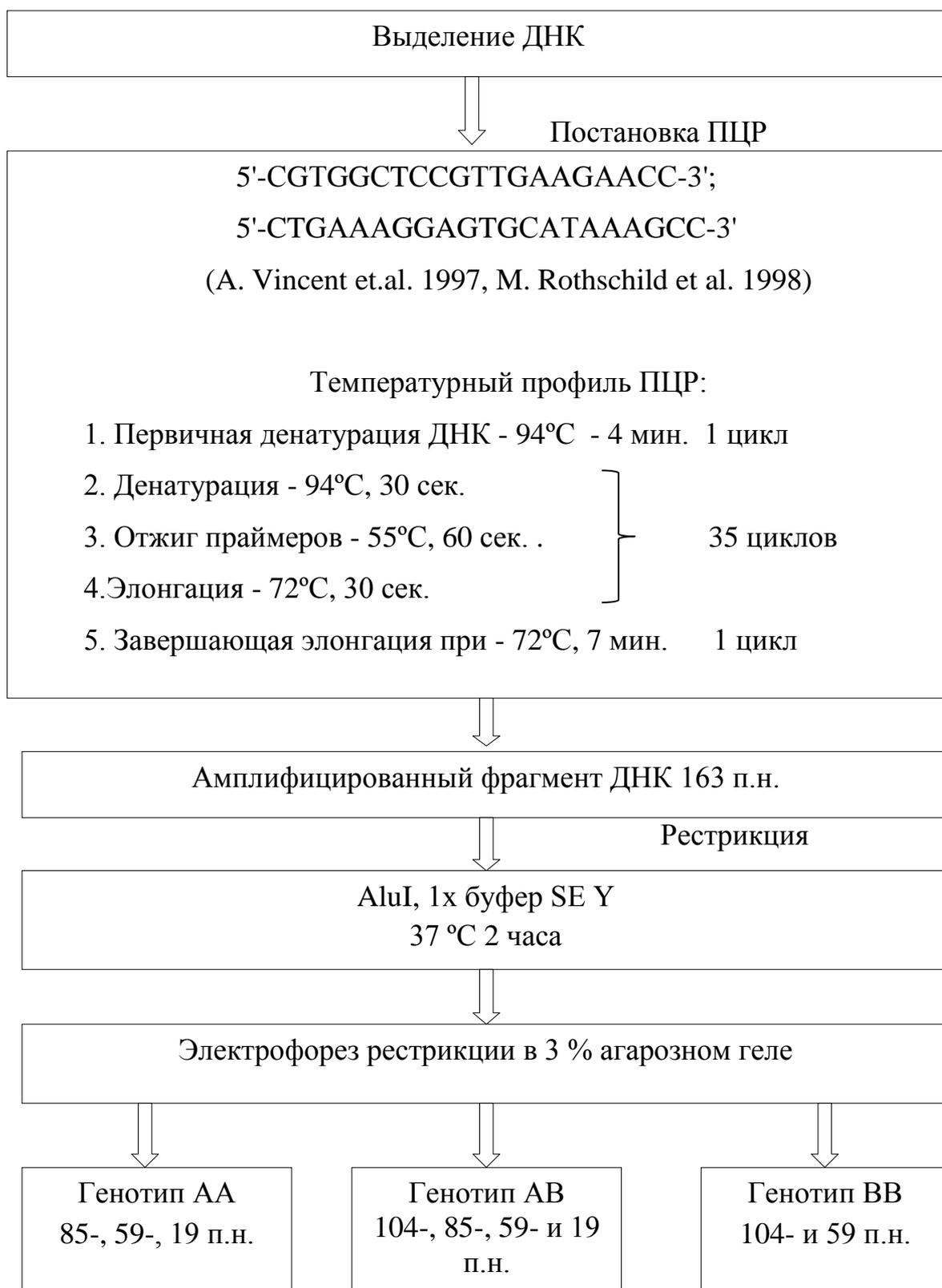


Рис.5. Схема изучения полиморфизма гена PRLR/AluI

### 3.3. Популяционно – генетический анализ

Частоту аллелей и генотипов определяли по формулам (Г.В. Максимов и др., 2010):

$$P_A = \frac{2 \cdot n_1 + n_3}{2 \cdot N}$$

$$P_{A'} = \frac{2 \cdot n_2 + n_3}{2 \cdot N}$$

$$P_{AA} = \frac{n_1}{N}, P_{A'A'} = \frac{n_2}{N}, P_{AA'} = \frac{n_3}{N}$$

где  $P_A$  – частота аллеля А,  $P_{A'}$  – частота аллеля А',  $P_{AA}$  – частота генотипа АА,  $P_{A'A'}$  – частота генотипа А'А',  $P_{AA'}$  – частота генотипа АА',  $n_1$  – количество гомозигот АА,  $n_2$  – количество гомозигот А'А',  $n_3$  – количество гетерозигот АА', N – общее количество животных.

### 3.4. Статистический анализ

Влияние генотипов по исследуемым генам на воспроизводительные, откормочные и мясные качества изучалось у животных породы ландрас с помощью многофакторного анализа на основе следующей линейной модели:

$$Y_{ijklmn} = \mu + L_i + G_j + O_k + LIF_1 + PRLR_m + MC4R_n + E_{ijklmn},$$

где  $\mu$  – среднее значение признака в популяции;

$L_i$  – эффект i-й линии (i=1 – линия Лорда, i=2 – линия Лексса, i=3 линия – Ларса);

$G_j$  – эффект j-го поколения (j=1 – свиноматки 2010 года рождения; j=2 – свиноматки 2013 года рождения);

$O_k$  - эффект номера опороса;

$LIF_1$  – эффект генотипа по гену LIF;

$PRLR_m$  – эффект генотипа по гену PRLP;

$MC4R_n$  – эффект генотипа по гену MC4R;

$E_{ijklmn}$  – ошибка.

Коэффициенты множественной регрессии, полученные в результате расчета модели, позволяют определить степень влияния факторов, включенных в модель, на изменчивость признака. При этом интерес представляют коэффициенты переменных LIF, PRLR, MC4R. Включение в модель факторов линии, поколения и номера опороса позволяет повысить точность оценки интересующих нас факторов генотипа и исключить ложные частные корреляции.

После расчета уравнения множественной регрессии, оценивается его статистическая значимость с помощью F-критерия, и значимость отдельных коэффициентов с помощью t-критерия (Е.К. Меркурьева, 1983).

При оценке эффекта генотипа использовали методику D. Falconer и T. Maskau (1996). При расчете эффективности генотипов по гену LIF оценивали эффект генотипа путем определения разности между генотипами AA и BB; AA и AB; AB и BB, с достоверностью разницы - \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ .

При расчете эффективности генотипов гена MC4R оценивали аддитивное влияние аллелей A и G, как разность между генотипами AG-(AA+GG)/2 и эффект генотипа, как разность между генотипами AA и GG; AG и GG, с достоверностью разницы - \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ .

По гену PRLR оценивали эффект желательного генотипа, путем определения разности между генотипами AA и BB; AA и AB, с достоверностью разницы - \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ .

## **4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИСЛЕДОВАНИЙ**

### **4.1. Распределение частот аллелей и генотипов по гену LIF/DraIII у свиней различных пород и линий**

Лейкемия-ингибирующий фактор представляет собой цитокин плейотропного действия, который участвует во многих физиологических процессах, в том числе пролиферации, дифференцировки и выживаемости клеток. Благодаря ключевой роли в росте и имплантации бластоцисты у мышей (С. Stewart и др., 1992), ген LIF был выбран в качестве потенциального гена-кандидата плодовитости. В 2006 году было опубликовано исследование, которое предложило связь между мутациями в гене LIF и бесплодием у женщин (М. Králíčková и др., 2006). Отчет К. Ropka-Molik (2012) подтверждает роль гена LIF в подготовке матки к имплантации эмбрионов у свиней.

Регулирование этих процессов практически не изучено, но известно, что сложное взаимодействие между пептидными и стероидными гормонами синхронизируют подготовку матки к имплантации и развитию эмбриона.

Ген LIF у свиней локализован в хромосоме 14q21-q22 в пределах доверительного интервала QTL, связанного с количеством поросят при рождении и многоплодием. Однонуклеотидный полиморфизм гена LIF установлен в 3 экзоне в позиции 6988 (С→Т) и может быть определен методом ПЦР-ПДРФ.

В связи с вышеуказанными особенностями данного ДНК-маркера нами были проведены исследования по изучению распределения частот аллелей и генотипов по гену LIF у отечественных пород и линий.

#### **4.1.1. Распределение частот аллелей и генотипов по гену LIF у свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса, Ларса**

Создание групповых генотипов, то есть относительно гомозиготных линий при их дифференцированной селекции должно предусматривать наследственную идентичность всех представителей линии, что достигается применением

внутрилинейного подбора. В этой связи большое значение приобретает изучение по данным полиморфизма генов генетической конструкции линий.

Полиморфизм гена LIF оценивали согласно представленной методике. ПЦР геномной свиной ДНК с праймерами LIF3SNPа и LIF3SNPб характеризуется фрагментом 407 п.н. Для аллеля А характерно отсутствие сайта рестриктазы DraIII, поэтому фрагмент полученный при ПЦР остается неизменным. После гидролиза с DraIII наличие нерасщепленного фрагмента определяет аллель А, а расщепленного фрагмента - аллель В. Наличие одного фрагмента длиной 407 п. н. соответствует генотипу АА, фрагменты длиной 266 и 144 п.н. генотипу ВВ, фрагменты длиной 407, 266 и 144 п. н.– генотипу АВ (рис. 6).

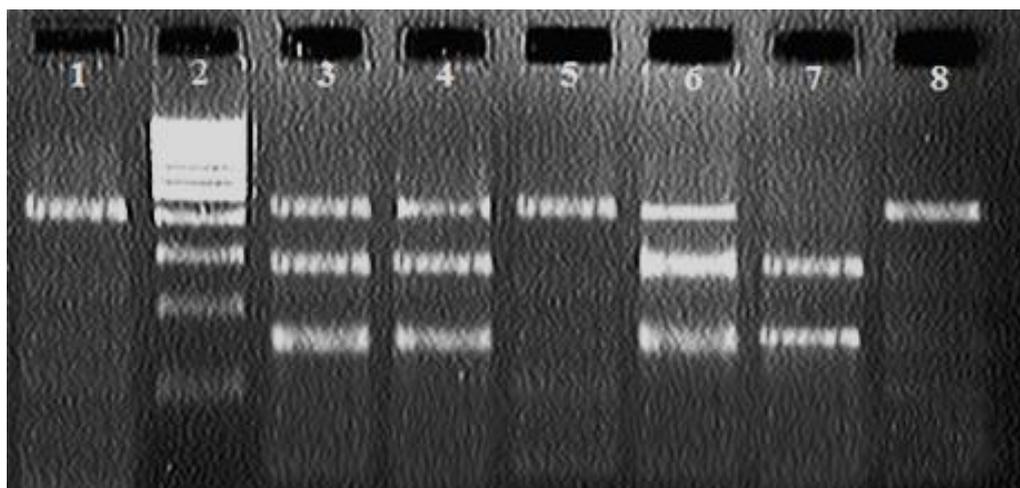


Рис. 6. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена LIF/DRAIII в 2,5 % агарозном геле

Обозначения: 1- ПЦР продукт (407 п.н.) ; 2 - ДНК-маркер 100 bp; 5,8 – генотип АА (407 п.н.); 7 – генотип ВВ (266- и 144 п.н.); 3,4,6 – генотип АВ (407-, 266- и 144 п.н.)

В результате изучения распределения частот аллелей и генотипов по гену LIF у свиней породы ландрас были определены три генотипа АА, АВ и ВВ (табл. 3). В линиях Лорда, Лексса и Ларса 2010 года рождения наибольшую частоту имел аллель В (0,61; 0,56 и 0,61, соответственно), но уже у свиней линий Лорда,

Лексса и Ларса 2013 года рождения было отмечено повышение частоты аллеля А. Характеристика распределения частоты аллеля А/LIF, в исследуемых линиях изображена на рисунке 7.

Таблица 3 – Частота аллелей и генотипов гена LIF у свиней породы ландрас

Линия	Выборка, n	Частота аллелей		Частота генотипов, %					
				АА		АВ		ВВ	
		А	В	n	%	n	%	n	%
Свиньи 2010 года рождения									
Лорд	29	0,39	0,61	3	9,7	17	58,1	9	32,2
Лексс	21	0,44	0,56	5	25,0	7	37,5	9	37,5
Ларс	13	0,39	0,61	2	15,4	6	46,1	5	38,5
Свиньи 2013 года рождения									
Лорд	116	0,44	0,56	25	22,0	51	43,3	40	34,7
Лексс	93	0,53	0,47	20	21,3	60	63,8	13	14,9
Ларс	54	0,60	0,40	13	28,9	37	62,2	4	8,9

Гетерозиготный генотип АВ преобладал во всех исследуемых группах. Частота генотипа АВ у свиней линии Лорда 2010 года рождения составила 58,1 %, но в линии Лорда 2013 года рождения произошло уменьшение частоты гетерозиготного генотипа АВ и повышение гомозиготного генотипа АА.

В линиях Лексса и Ларса 2010 года рождения напротив, частота генотипа АВ у потомства увеличилась на 26,3 и 16,1% и составила в линии 63,8 и 62,2%, соответственно.

В линии Лорда от 2010 до 2013 г. наблюдалось незначительное увеличение частоты генотипа ВВ. При этом в линиях Лексса и Ларса 2013 года рождения

существенно уменьшилась частота генотипа ВВ на 22,6 и в 29,6%, соответственно.

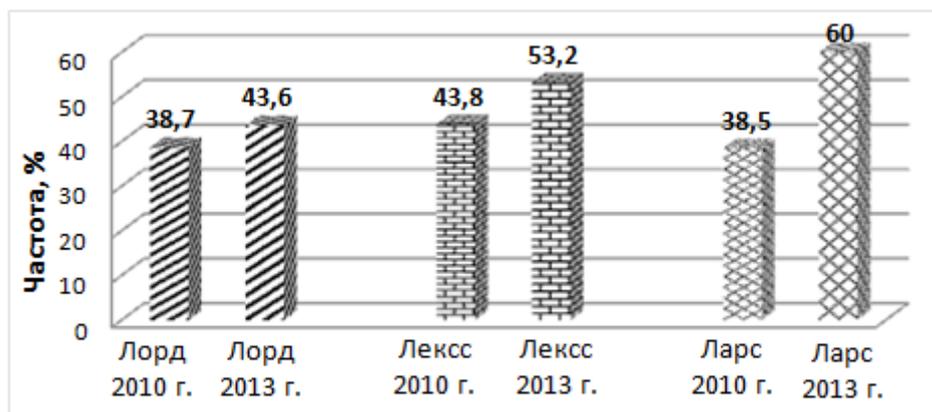


Рис.7. Распределение частоты аллеля A/LIF в исследуемых линиях свиней в динамике

Таким образом, проведенный анализ показал, что в исследуемой популяции у свиней породы ландрас частоты аллелей А и В распределены практически одинаково (0,48 и 0,52, соответственно).

Следует отметить, что изучение распределения частот аллелей и генотипов, а также влияния гена LIF на продуктивные качества свиней, в Российской Федерации не проводилось (согласно литературным данным в открытом доступе), но имеются данные зарубежных ученых, проводивших аналогичные исследования.

Так, исследования D. Napierała и др. (2013) генетической структуры поголовья гибридов (польская крупная белая × польский ландрас, n=1760) показали высокую частоту аллеля В (0,64), что в результате повлияло на относительно высокую частоту гомозиготного генотипа ВВ (0,44), относительно генотипа АА (0,15). Частота гетерозиготного генотипа АВ составила 0,41.

Изучение распределения частот аллелей гена LIF в немецкой синтетической линии свиней (n=41), проведенное А. Spötter и др. (2005), показало низкую

частоту аллеля А (0,27) и значительное доминирование аллеля В (0,73) в популяции.

Сопоставляя частоты аллелей гена LIF у исследованного нами поголовья свиней породы ландрас с литературными данными, следует отметить породный и, возможно, географический аспект распределения частот аллелей и генотипов данного гена.

У свиней породы немецкий ландрас частоты аллелей А и В составили 0,56 и 0,44, соответственно (А. Spötter и др., 2003). В популяции преобладал гетерозиготный генотип АВ (0,54), частоты гомозиготных генотипов АА и ВВ составили 0,34 и 0,12, соответственно.

Таким образом, на основании собственных исследований и литературных данных можно заключить, что для породы ландрас характерны все три генотипа (АА, АВ и ВВ) гена LIF, но наибольшая частота, как правило, принадлежит гетерозиготному генотипу.

#### **4.1.2. Распределение частот аллелей и генотипов по гену LIF у свиней крупной белой породы**

В результате анализа генетической структуры свиней крупной белой породы определено наличие всех трех генотипов АА, АВ и ВВ (табл.4).

Наименьшей частотой обладал гомозиготный генотип ВВ (5,9%), частота генотипа АА имела промежуточное значение (36,3%). В исследуемой популяции, при оценке распределения частот, явным приоритетом располагал аллель А (0,65). Наибольшую частоту имел генотип АВ (57,8%), который был определен у 78 свиноматок.

Таблица 4 – Частота аллелей и генотипов гена LIF у свиней крупной белой породы

Порода	Выборка, n	Частота аллелей		Частота генотипов					
		А	В	АА		АВ		ВВ	
				n	%	n	%	n	%
Крупная белая	135	0,65	0,35	49	36,3	78	57,8	8	5,9

В результате исследований А. Spötter и др. (2003) генетической структуры по гену LIF свиней немецкой крупной белой породы (n=18) установлено, что аллель А встречался реже (0,25), чем аллель В (0,75) (рис.8). Наиболее распространенным в этой популяции был генотип ВВ (0,51), реже всего встречался АА (0,06).

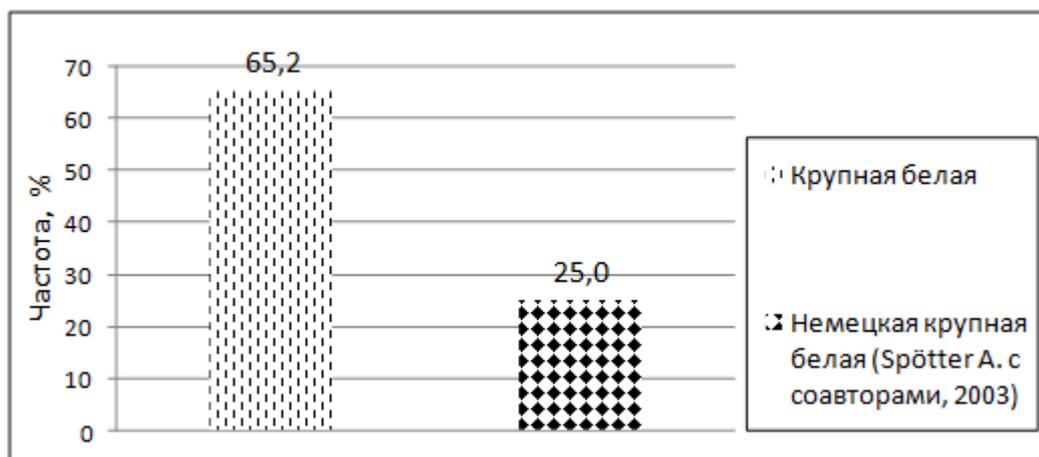


Рис. 8. Распределение частоты аллеля А/LIF у свиней крупной белой породы

Вероятно, что такое распределение частот у свиней крупной белой породы связано с происхождением и своеобразием структуры внутривидовых типов. Наши исследования проводились на свиньях крупной белой породы английской селекции, которые, вероятно, относительно свиней польской и немецкой селекции, обладают определенными особенностями.

### 4.1.3. Распределение частот аллелей и генотипов по гену LIF у свиней породы дюрок

Анализ частот аллелей и генотипов свиней породы дюрок показал наличие трех генотипов гена LIF (табл.5). В исследуемой популяции наибольшую частоту имел аллель В (76,1%) и генотип ВВ (60,7%). Наименьшая частота определена для генотипа АА.

Таблица 5 – Частота аллелей и генотипов гена LIF у свиней породы дюрок

Порода	Выборка, n	Частота аллелей		Частота генотипов, %					
		А	В	АА		АВ		ВВ	
				n	%	n	%	n	%
Дюрок	46	0,24	0,76	4	8,8	14	30,5	28	60,7

Аналогичные результаты были получены в исследованиях А. Spötter и др. (2003) на свиньях породы дюрок, результаты которых показали наименьшую частоту аллеля А (0,33). Распределение частоты аллеля А в наших исследованиях и по результатам А. Spötter и др. (2003) представлены на рисунке 9.

Таким образом, проведенный анализ показал наличие полиморфизма гена LIF в породах свиней ландрас, крупная белая и дюрок. Во всех исследуемых группах присутствовали три генотипа АА, АВ и ВВ, но при этом можно отметить породный аспект распределения частоты. Для свиней породы дюрок, в отличие от крупной белой и ландрас, характерна высокая частота гомозиготного генотипа ВВ. Полиморфный характер гена LIF дает все основания для проведения дальнейших исследований и оценки влияния на продуктивные показатели свиней, с целью его использования в качестве ДНК-маркера.

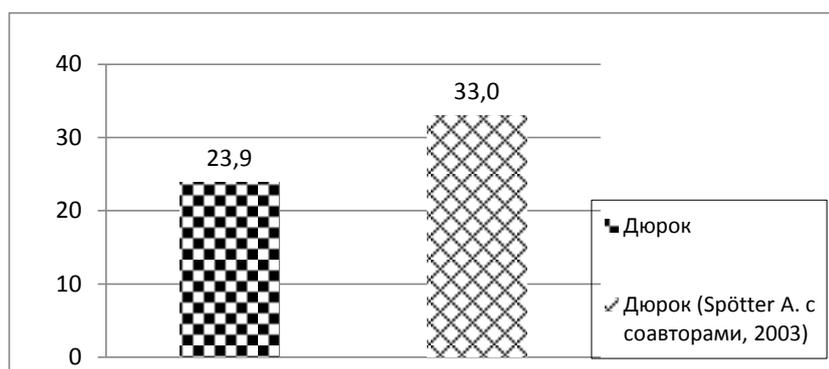


Рис.9. Распределение частоты аллеля A/LIF у свиней породы дюрок

## 4.2. Влияние генотипов гена LIF на продуктивные качества свиней породы ландрас

### 4.2.1. Воспроизводительные качества свиней различных генотипов по гену LIF с учетом линейной принадлежности

Программой гибридизации в ЗАО «Племзавод-Юбилейный» в качестве материнской породы предусмотрено использование ландрасов. Комплектование генеалогических линий осуществлялось путем приобретения лучших животных из Дании. Проведенный анализ селекционно-генетических признаков воспроизводительной продуктивности свиноматок породы ландрас выявил, что данные по количеству поросят при рождении и многоплодию обладают достаточно большой изменчивостью. Это указывает на наличие большого разнообразия и возможности проведения эффективной селекции.

Анализ воспроизводительных качеств свиноматок линии Лорда 2010 года рождения в зависимости от генотипов гена LIF не показал наличия достоверного влияния данного гена на количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда (табл.6), но отмечалось превосходство свиноматок генотипа АВ над аналогами генотипа ВВ.

Таблица 6 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Лорда 2010 года рождения различных генотипов по гену LIF (n=29)

Генотип	Количество поросят при рождении, гол.	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
АА	-	-	-	-	-
АВ	14,51±0,49	13,31±0,52	19,22±0,70	73,97±5,52	89,27±7,18
ВВ	13,80±1,03	12,72±0,76	18,30 ±1,28	72,91±3,96	81,10±5,14

В качестве желательного генотипа по гену LIF в исследуемой выборке установлен генотип АВ гена LIF, наличие которого у свиноматок 2010 года рождения линии Лорда, относительно аналогов генотипа ВВ, связано с большим количеством поросят при рождении, многоплодием, массой гнезда при рождении, массой гнезда в 21 день и массой гнезда при отъеме на 0,7 гол. (5,1%), 0,6 гол. (4,9%), 0,9 кг (4,9%), 1,06 кг (1,5%) и 8,1 (10%) кг, соответственно. Отсутствие данных по генотипу АА (в связи с низкой частотой) не позволяет определить, являются ли полученные результаты эффектом взаимодействия двух аллелей А и В или это эффект только аллеля А.

Анализ воспроизводительных качеств свиноматок линии Лорда 2013 года рождения в зависимости от генотипов гена LIF (табл.7) показал наличие достоверного влияния данного гена на воспроизводительные качества.

Результаты первого опороса показали превосходство свиноматок генотипа АА над аналогами генотипа ВВ по количеству поросят при рождении, многоплодию, массе гнезда в 21 день и массе гнезда при отъеме на 1,11 (8,4%) и 0,87 гол. (7,2%,  $P<0,05$ ), 11 кг (19%) и 19,6 кг (26,8%,  $P<0,05$ ), соответственно.

Таблица 7 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Лорда 2013 года рождения различных генотипов по гену LIF (n=21)

Генотип	Количество поросят при рождении, гол.	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
Первый опорос					
АА	14,31±0,34*	12,91±0,31*	17,87±1,14	68,81±3,31*	92,71±6,51*
АВ	11,63±0,57	11,14±0,57	14,02±1,76	62,50±5,52	82,20±7,18
ВВ	13,20±0,33	12,04±0,32	16,10±1,92	57,81±3,96	73,10±5,12
Второй опорос					
АА	14,21±0,74*	14,11±0,71*	19,66±1,45	73,76±3,72	81,62±14,96
АВ	13,60±0,48	13,05±0,53	18,85±0,59	71,11±3,02	97,91±7,52
ВВ	12,32±0,25	12,31±0,25	18,11±0,07	79,13±8,12	103,50±10,7**
Всего <sup>1</sup>					
АА	14,51±0,41**	13,52±0,51*	19,14±0,85	69,50±3,01	82,14±9,77
АВ	12,90±0,35	12,51±0,42	17,41±0,88	70,62±2,37	95,13±5,25
ВВ	12,92±0,39	12,40±0,45	17,54±1,05	67,81±5,02	85,81±6,53

\* P<0,05 \*\* P<0,01 (разность между генотипами АА и ВВ)

<sup>1</sup> – в среднем по двум опоросам

При анализе воспроизводительных качеств свиной по второму опоросу также лучшими показателями исследуемых признаков обладали свиные генотипа АА, превосходившие аналогов генотипа ВВ по количеству поросят при рождении и многоплодию на 1,89 гол. (15,3%) и 1,8 гол. (14,6%, P<0,05), соответственно. Свиноматки генотипа АВ имели промежуточные значения.

Низкими показателями воспроизводительных качеств характеризовались свиноматки генотипа ВВ, но при этом в данной группе установлена наибольшая

масса гнезда при отъеме, превышающая аналогов генотипа АА на 21,9 кг (26,8%,  $P < 0,05$ ).

Лучшими воспроизводительными качествами в среднем по двум опоросам отличались также свиноматки генотипа АА. Относительно аналогов генотипа ВВ, они имели больше поросят при рождении и многоплодие на 1,59 (12,3%,  $P < 0,01$ ) и 1,12 гол. (9,0%,  $P < 0,05$ ), соответственно. Достоверной разницы по массе гнезда при рождении, в 21 день и отъеме установлено не было.

На основании оценки воспроизводительных качеств свиной линии Лорда 2013 года рождения различных генотипов гена LIF в качестве желательного установлен генотип АА, который связан с увеличением количества поросят при рождении и многоплодием.

В результате проведенных исследований установлено влияние полиморфизма гена LIF на воспроизводительные качества свиноматок линии Лексса 2010 года рождения (табл.8).

Таблица 8 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Лексса 2010 года рождения различных генотипов по гену LIF (n=21)

Генотип	Количество поросят при рождении, гол.	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
АА	13,90±0,55*	12,71±0,37*	18,30±1,58	63,21±6,18	93,13±5,14
АВ	13,23±0,53	11,90±0,61	17,08±1,93	68,14±5,52	97,21±7,18
ВВ	12,51±0,67	11,40±0,43	16,20±0,80	71,81±3,96	94,10±5,14

\*  $P < 0,05$  (разность между генотипами АА и ВВ)

Свиноматки генотипа АА гена LIF по сравнению с аналогами генотипа ВВ имели лучшие показатели по количеству поросят при рождении и многоплодию на 1,4 гол. (11,1%,  $P < 0,05$ ) и 1,3 гол. (11,5%,  $P < 0,05$ ), соответственно. Следует

отметить, что промежуточные показатели по количеству поросят при рождении и многоплодию свиноматок генотипа АВ можно рассматривать в качестве подтверждения, что концентрация желательного аллеля А в генотипе животных способствует повышению многоплодия.

Таким образом, в качестве желательного по воспроизводительным качествам, рекомендуемого для закрепления у свиней линии Лексса выступает генотип АА.

В результате анализа генетической структуры свиней линии Лексса 2013 года рождения было установлено наличие двух генотипов - АА и АВ, генотип ВВ в исследуемой выборке отсутствовал.

Оценка воспроизводительных качеств свиней линии Лексса 2013 года рождения различных генотипов гена LIF показала влияние генотипа АА на количество поросят при рождении и многоплодие (табл.9).

При анализе данных по первому опоросу установлено, что свиньи с генотипом АА превосходили аналогов генотипа АВ по количеству поросят при рождении, многоплодию и массе гнезда при рождении на 3,14 гол. (31,3%), 3,1 гол. (36%,  $P < 0,05$ ), 4,3 (34,6%,  $P < 0,05$ ) кг, соответственно.

В результате анализа данных по второму опоросу достоверной разности между показателями свиноматок генотипов АА и АВ установлено не было, но при этом следует отметить, что свиноматки генотипа АА превосходили животных генотипа АВ по всем анализируемым показателям. Аналогичные результаты получились и при оценке воспроизводительных качеств свиноматок в среднем по двум опоросам, где свиньи с генотипом АА превосходили аналогов генотипа АВ по количеству поросят при рождении и многоплодию на 1,7 гол. (14,9%) и 1,28 гол. (11,8%).

Таблица 9 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Лексса 2013 года рождения различных генотипов по гену LIF (n=18)

Гено тип	Количество поросят при рождении, гол.	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
Первый опорос					
AA	13,14±1,12*	11,57±1,36*	16,85±1,56*	65,96±3,42	88,82±3,93
AB	10,01±0,21	8,51±0,52	12,52±0,51	61,10±5,20	80,62±6,51
BB	-	-	-	-	-
Второй опорос					
AA	13,21±0,93	12,52±0,61	18,11±1,20	74,51±2,20	93,21±5,92
AB	12,52±2,51	12,01±2,03	20,04±5,11	60,05±7,05	82,51±2,51
BB	-	-	-	-	-
Всего <sup>1</sup>					
AA	13,10±0,75	12,09±0,72	18,11±1,12	75,33±3,06	99,80±3,71
AB	11,40±1,12	10,81±1,21	16,62±2,41	69,05±7,71	91,61±10,22
BB	-	-	-	-	-

\* P<0,05 (разность между генотипами AA и AB)

<sup>1</sup> - в среднем по двум опоросам

Соответственно полученным данным в качестве желательного генотипа в линии Лексса определен генотип AA. Данный генотип в линии связан с повышением количества поросят при рождении и многоплодием на 1,4 гол. (11,1%) и 1,3 гол. (11,49%), соответственно.

Анализ воспроизводительных качеств свиней линии Ларса 2010 года рождения в зависимости от генотипов гена LIF показал наличие достоверного влияния данного гена на количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда при рождении (табл. 10).

Таблица 10 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Ларса 2010 года рождения различных генотипов по гену LIF (n=13)

Генотип	Кол-во поросят при рождении, гол.	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
АА	-	-	-	-	-
АВ	14,70±0,53**	13,20±0,48**	18,40±1,23	68,92±5,20	91,21±5,92
ВВ	12,72±0,43	11,50±0,53	16,52±0,91	72,71±7,05	85,23±2,51

\*\* P<0,01(разность между генотипами АВ и ВВ)

Для оценки влияния генотипов на воспроизводительные качества, свиноматки генотипа АА (n=2) и АВ (n=6) были объединены в одну группу, для оценки влияния желательного аллеля А. В качестве желательного генотипа по гену LIF в исследуемой выборке выступал генотип АВ, наличие которого у свиноматок линии Ларса 2010 года рождения, относительно аналогов генотипа ВВ, связано с большим количеством поросят при рождении и многоплодием на 1,98 гол. (15,6%, P<0,01) и 1,7 гол. (14,8%, P<0,01), соответственно.

Таким образом, в качестве желательного генотипа гена LIF по воспроизводительным качествам, рекомендуемого для закрепления у свиней линии Ларса 2010 года рождения, установлен генотип АВ.

В результате анализа свиноматок линии Ларса 2013 года рождения было также установлено наличие двух генотипов, но в данной выборке отсутствовал генотип ВВ, а генотип АА встречался чаще, чем у свиней линии Ларса 2010 года рождения. Результаты исследования влияния генотипов гена LIF на воспроизводительные качества свиней линии Ларса 2013 года рождения представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Ларса 2013 года рождения различных генотипов по гену LIF (n=18)

Гено тип	Кол-во поросят при рождении, гол.	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
Первый опорос					
АА	15,01±0,34*	13,61±0,52*	20,32±2,33	75,02±3,21	98,62±3,93
АВ	14,12±0,27	12,11±0,47	18,22±1,84	77,71±3,29	103,12±4,43
ВВ	-	-	-	-	-
Второй опорос					
АА	13,31±1,21	13,12±1,02	18,31±2,12	60,31±4,92	80,32±6,61
АВ	14,21±0,64	11,71±0,66	17,12±1,08	63,11±4,49	83,48±5,98
ВВ	-	-	-	-	-
Всего <sup>1</sup>					
АА	14,25±0,83	13,55±0,38*	19,31±1,32	71,84±3,14	94,52±4,45
АВ	14,12±0,49	12,31±0,35	18,04±0,88	71,92±2,95	95,24±4,28
ВВ	-	-	-	-	-

\* P<0,05 (разность между генотипами АА и АВ)

<sup>1</sup>- в среднем по двум опоросам

При анализе данных по первому опоросу было установлено достоверное влияние генотипа АА на воспроизводительные качества. Наличие генотипа АА у свиноматок, относительно аналогов генотипа АВ, связано с лучшими показателями по количеству поросят при рождении, многоплодию и массе гнезда при рождении на 0,89 гол. (6,3%, P<0,05); 1,5 гол. (12,4%, P<0,05) и 2,1 кг (11,5%), соответственно.

При оценке данных по второму опоросу достоверного влияния на воспроизводительные качества установлено не было, но анализ всех имеющихся

опоросов показал лучшие результаты по многоплодию у свиноматок генотипа AA на 1,24 гол. (10,07%,  $P < 0,05$ ).

Таким образом, во всех исследуемых выборках было установлено влияние генотипов гена LIF на воспроизводительные качества свиноматок.

При изучении влияния генотипов гена LIF A. Spötter и др. (2005) получены аналогичные результаты, в которых у свиноматок синтетической немецкой линии, несмотря на низкую частоту аллеля A, наблюдалось положительное влияние его на многоплодие. Исследования A. Spötter и др. (2009), в которые вошли две больших популяции свиней пород крупной белой и ландрас, показали, что наличие аллеля A у свиноматок связано с большим количеством живых поросят при рождении.

В наших исследованиях также наблюдается положительный эффект аллеля A, который прослеживается во всех исследуемых линиях. В качестве желательного установлен генотип AA, который рекомендуется для дальнейшего закрепления в породе ландрас, с целью повышения воспроизводительных качеств свиноматок.

#### **4.2.2. Откормочные и мясные качества свиней различных генотипов по гену LIF**

По данным отечественных и зарубежных источников литературы исследований влияния гена LIF на откормочную и мясную продуктивность свиней практически не проводилось, что, в большей степени, связано с функциональными особенностями данного фактора, его целенаправленным влиянием на воспроизводительные показатели. Тем не менее, для дальнейшего закрепления желательного генотипа необходимо изучить возможное плейотропное влияние генотипов на откормочные и мясные признаки свиней породы ландрас с учетом линейной принадлежности и исключить возникновение нежелательных эффектов между данными признаками и воспроизводством.

Для анализа использовали результаты контрольного выращивания свиней линии Лорда 2010 (n=29) и 2013 года рождения (n=116).

В результате анализа откормочных и мясных качеств свиней линии Лорда достоверного влияния генотипов гена LIF на рассматриваемые показатели установлено не было (табл.12).

Можно отметить, что в линии Лорда лучшие показатели по среднесуточным приростам имели свиньи генотипа АВ. По длине туловища отличались свиньи генотипа ВВ. Закономерностей по толщине шпика и скороспелости установлено не было.

Таблица 12 – Результаты контрольного выращивания свинок линии Лорда различных генотипов гена LIF

Генотип	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свиньи линии Лорда 2010 года рождения (n=29)				
АА	156,71 ± 3,84	11,31 ± 0,32	121,70 ± 2,91	827,71±24,01
АВ	158,32 ± 1,41	11,23 ± 0,33	124,52 ± 1,03	897,40±19,21
ВВ	160,53 ± 2,92	10,41 ± 0,81	126,74 ±1,01	872,61±26,11
Свиньи линии Лорда 2013 года рождения (n=116)				
АА	167,01 ± 1,90	11,80 ± 0,51	122,60±0,80	769,81±13,51
АВ	165,30 ± 1,31	12,62 ±0,34	122,60±0,30	786,70±9,70
ВВ	165,42 ± 1,72	12,51 ±0,43	123,01±0,60	767,63±14,7

Таким образом, полученные данные позволяют рекомендовать закрепление желательного генотипа АА гена LIF в линии Лорда для повышения воспроизводительных качеств свиноматок без ущерба для мясных и откормочных качеств.

Аналогичные исследования были проведены в линиях Лексса и Ларса. Для анализа использовали результаты контрольного выращивания свинок линии Лексса 2010 (n=21) и 2013 года рождения (n=93).

В результате проведенных исследований генотипов гена LIF достоверного влияния на откормочные и мясные качества свиней линии Лексса не установлено (табл.13).

Таблица 13 - Результаты контрольного выращивания свинок линии Лексса различных генотипов гена LIF

Генотип	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свиньи линии Лексса 2010 года рождения (n=21)				
AA	157,61 ± 3,12	13,21 ± 0,70	126,21 ± 1,01	801,01 ± 40,04
AB	156,14 ± 3,30	12,12 ± 1,11	127,93 ± 1,71	891,58 ± 43,11
BB	160,91 ± 1,92	12,23 ± 0,71	126,79 ± 0,90	826,31 ± 37,24
Свиньи линии Лексса 2013 года рождения (n=93)				
AA	161,20 ± 6,41	13,22 ± 0,57	121,31 ± 0,83	797,95 ± 21,22
AB	165,01 ± 1,20	14,01 ± 0,34	122,71 ± 0,62	770,04 ± 11,72
BB	174,22 ± 2,81	12,62 ± 1,05	124,71 ± 4,54	710,27 ± 23,59

Несмотря на это, следует отметить следующие наблюдения. Свиньи линии Лексса 2010 года рождения генотипа AA гена LIF, относительно животных генотипа BB, имели тенденцию к лучшей скороспелости на 3,3 дн. (2,1%), но при этом большую толщину шпика на 1 мм (7,4%). Лучшие показатели по откормочным и мясным качествам принадлежали свиньям генотипа AB, которые превосходили аналогов генотипов AA и BB по среднесуточному приросту на 90,6 (11,3%) и 65,3 г (7,9%), соответственно.

В линии Лексса 2013 года рождения животные генотипа АА, относительно аналогов генотипа ВВ, отличались лучшей скороспелостью на 13 дн. (7,47%), среднесуточным приростом на 87,6 г (12,3%), но при этом большей толщиной шпика на 0,6 мм (4,5%) и меньшей длиной туловища на 3,4 см (2,8%).

Таким образом, на основании ранее полученных результатов по воспроизводительным качествам, ген LIF в большей степени следует рассматривать как маркер плодовитости свиней, связанный с количеством поросят при рождении и многоплодием.

Для предотвращения негативных эффектов (повышение толщины шпика и т.д.) следует подбирать маркеры (гены), обладающие высокой «прямой» связью с откормочными и мясными качествами.

Для анализа влияния генотипов гена LIF на откормочные и мясные качества свиней линии Ларса использовались результаты контрольного выращивания свинок линии Ларса 2010 (n= 13) и 2013 года рождения (n=54).

В результате проведенного анализа, у свиней линии Ларса 2013 года рождения, в отличие от других анализируемых групп, отмечалось достоверное влияние генотипов гена LIF на откормочные и мясные качества (табл.14).

Свиньи линии Ларса 2013 года рождения генотипа АА имели лучшие показатели по всем анализируемым признакам и превосходили аналогов генотипа ВВ по скороспелости на 13 дн. (7,8%,  $P<0,01$ ), среднесуточному приросту на 106,2 г (13,9%  $P<0,05$ ), длине туловища на 4,2 см (3,5%,  $P<0,01$ ) и толщине шпика на 2,3 мм (18,6%,  $P<0,05$ ). Отсутствие влияния у свиней линии Ларса 2010 года рождения возможно связано с исключением из анализа генотипа АА, в связи с его низкой частотой в выборке (n=2).

Полученные результаты поднимают вопрос о том, являются ли выявленные закономерности «прямым» влиянием генотипов гена LIF или же находятся в рамках группового генотипа. На данный момент, на основании данных в других линиях, т.е. отсутствие достоверного влияния генотипов на признаки откормочной и мясной продуктивности, мы склоняемся к мысли о наличии

комбинированного эффекта, т.е. влияние генотипа АА проявилось на фоне «группового» линейного генотипа. Тем не менее, дальнейшее закрепление генотипа АА в линии будет связано с повышением не только воспроизводительной продуктивности свиноматок, а также с откормочной и мясной.

Таблица 14 – Результаты контрольного выращивания свинок линии Ларса различных генотипов гена LIF

Генотип	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свиньи линии Ларса 2010 года рождения (n=13)				
АА	-	-	-	-
АВ	161,30 ± 1,89	10,21±0,92	122,01±1,60	831,51±37,12
ВВ	160,61 ± 5,55	10,83±0,62	123,80±2,40	857,40±41,01
Свиньи линии Ларса 2013 года рождения (n=54)				
АА	152,83 ± 2,78**	10,21 ± 0,62*	125,21±1,11**	867,61±30,34*
АВ	163,12 ± 1,45	11,89 ± 0,41	121,44 ± 0,62	782,21±14,89
ВВ	165,78 ± 2,67	12,55 ± 0,98	121,01 ± 1,04	761,43±36,97

\*P<0,05, \*\*P<0,01 (разность между генотипами АА и ВВ)

При изучении полиморфизма гена LIF нами не было установлено прямого влияния на откормочные и мясные качества свиней. Результаты исследований А. Spötter и др. (2005) свиней немецкой синтетической линии дюрок и крупной белой (n=273) так же указали на отсутствие существенного влияния на показатели мясной и откормочной продуктивности. В нашей работе статистически значимые различия были обнаружены только у свиней линии Ларса 2013 года рождения и установлено влияние на откормочные и мясные качества. Но в данном случае выявленные связи, скорее всего, носят линейный характер и не являются закономерностью. Однако, следует отметить отсутствие отрицательных эффектов между исследуемыми показателями воспроизводительной, откормочной и мясной

продуктивности, что дает возможность использовать ген LIF как эффективный ДНК-маркер для повышения воспроизводительных качеств свиней без ущерба для мясных и откормочных качеств.

#### **4.3. Распределение частот аллелей и генотипов по гену MC4R у свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса и Ларса**

Среди генов-кандидатов сигнальных молекул, участвующих в регулировании энергетического гомеостаза, интерес представляет меланокортиновый рецептор-4 (MC4R).

У свиней ген MC4R локализован в 1 хромосоме (SSC1) в позиции 1426 (G→A). Функциональной особенностью MC4R является контроль массы тела и регуляция пищевого поведения. На основании исследований ученых считается, что аллель A (Asn298-AAU) связан с более высокими среднесуточными приростами и толщиной шпика, а аллель G (Asp298 - GAU) - со скороспелостью и высокой конверсией корма. На сегодняшний день имеются данные, что некоторые особенности обмена в белках меланокортина реализуются при их взаимодействии с системой лептина. Полиморфизм гена MC4R приводит к замене аминокислотной последовательности рецептора меланокортина-4 (H. Park и др., 2002; J. Hernandez-Sanchez и др., 2003; K. Kim и др., 2006; A. Klimenko и др., 2014).

Контроль данной мутации может использоваться в селекции направленной как на снижение жира, так и на увеличение. Производители могут выбрать аллель A, связанный с быстрым ростом или аллель G связанный с постным мясом и эффективным приростом (K. Kim и др., 2007).

Жировая ткань играет активную роль в регуляции энергетического гомеостаза организма, действуя как эндокринный орган. Если при миссенс-мутации Asp298Asn в гене MC4R формируется аспарагин (Asn), то это приводит к блокированию сигнала лептина через рецептор меланокортина. Активность

лептина остается прежней и, следовательно, сигнал переходит на другие рецепторы, что приводит к инициации процесса образования жировой ткани. 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 (Ф.М. Нурғалиев, 2013; А. В. Усатов и др., 2015).

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 на воспроизводительные качества свиней практически не изучено.

В связи с вышесказанным одной из задач исследования было определение генетической структуры свиней породы ландрас по гену рецептора меланокортина-4, а также оценка его влияния на воспроизводительные, откормочные и мясные качества свиней.

В результате генотипирования по гену MC4R была изучена генетическая структура свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса и Ларса.

Для определения аллельных вариантов MC4R, амплифицированный фрагмент размером 226 п.н. разрежали эндонуклеазой рестрикции TagI.

При наличии мутации фермент не расщепляет выделенный фрагмент – на геле регистрируется только одна полоса размером 226 п.н., что соответствует животному с генотипом AA. Если амплифицированный фрагмент расщепляется на две части - 156 и 70 п.н., то мутация в нем отсутствует и такая проба соответствует животному с генотипом GG. Наличие на электрофореграмме трех полос - 226 п.н., 156 п.н. и 70 п.н. определяет гетерозиготный генотип AG (рис.10).

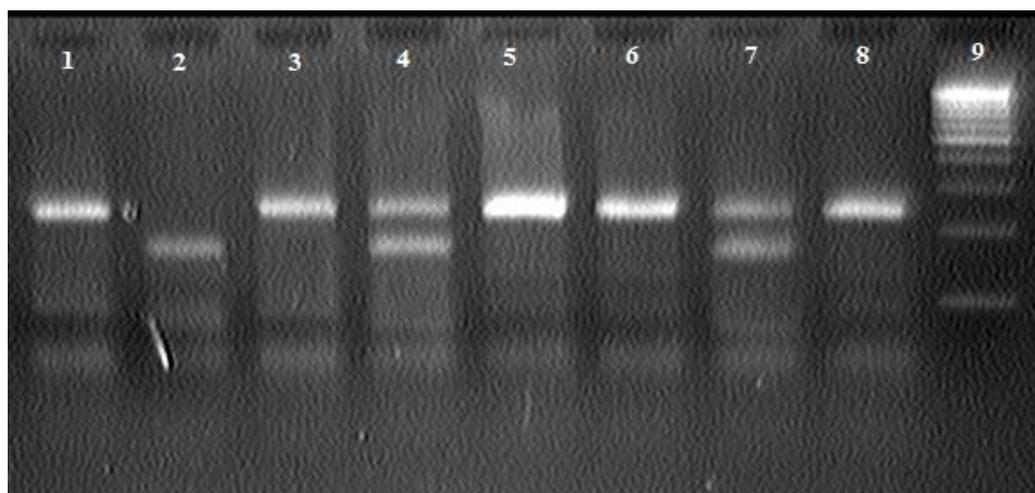


Рис.10. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена MC4R в 2 % агарозном геле

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

В линиях Лорда и Ларса 2010 года рождения, а также Лорда 2013 года рождения наибольшей частотой обладал аллель G (0,61, 0,60 и 0,71, соответственно). В линии Ларса 2013 года рождения наблюдалось повышение частоты аллеля A (0,42). Аллель A в исследуемых группах был закреплен неравномерно, а наибольшая частота наблюдалась в линии Лексса (табл.15).

У свиноматок линии Лорда 2010 года рождения наибольшую частоту имел генотип GG (43,8%), но у свиней этой линии 2013 года рождения наибольшая частота была перемещена на гетерозиготный генотип AG (49,2%). В линии Лексса генотипы были распределены практически одинаково, наибольшая частота принадлежала генотипу AG (50%), при этом частоты гомозиготных генотипов AA и GG имели практичные равные значения. Наибольшие изменения по распределению частот аллелей и генотипов в группах наблюдались у свиней линии Ларса. У свиней этой линии 2013 года рождения, относительно свиней 2010 года рождения, отмечено повышение генотипа AA на 5,9% и снижение частоты генотипа GG на 20,4%.

Таблица 15 – Частота аллелей и генотипов гена MC4R у свиней породы ландрас (n=326)

Линия	Выборка, n	Частота аллелей		Частота генотипов					
		A	G	AA		AG		GG	
				n	%	n	%	n	%
Свиньи 2010 года рождения									
Лорд	29	0,39	0,61	7	21,9	10	34,4	12	43,8
Лексс	21	0,52	0,48	7	29,2	10	45,8	4	25,0
Ларс	13	0,29	0,71	1	7,1	6	42,9	6	50,0
Свиньи 2013 года рождения									
Лорд	116	0,40	0,60	17	15,3	58	49,2	41	35,6
Лексс	93	0,53	0,47	25	27,7	47	50,0	21	22,3
Ларс	54	0,42	0,58	7	13,0	31	57,4	16	29,6

При исследовании различных пород свиней К. Kim и др. (2000), L. Hongy и др. (2010), К. Yu. и др. (2013), М. Oczkowicz и др. (2013), Y. Huang и М. Wang (2013), S. Ghaly и S. Al-Sowayan (2014), N. Nanuwong и W. Bodhisuwan (2014), А. Klimenko и др. (2014) отмечали следующую частоту аллеля А: польский ландрас - 0,29 (Польша), 0,28 (США), 0,32 (Корея); йоркшир - 0,76 (Польша), 0,57 (США), 0,75 (Корея); беркшир - 0,24 (Корея); крупная белая - 0,89 (Россия). По результатам исследований Л.В. Гетманцевой (2012) у свиней породы крупная белая наибольшую частоту имел генотип AA (64.4%), однако в породе ландрас датский генотип AA практически не встречался, а наибольшую частоту имел гетерозиготный генотип AG (80 %).

Таким образом, по литературным данным и результатам наших исследований наблюдается породный аспект распределения частот аллелей и генотипов по гену MC4R. Наибольшая частота аллеля А и генотипа AA

характерна для свиней крупной белой породы и йоркшир. У свиней породы ландрас, как правило, наибольшая частота принадлежит гетерозиготному генотипу AG. При этом частоты гомозиготных генотипов AA и GG варьируются в зависимости от направления селекционной работы.

#### **4.4. Влияние генотипов гена MC4R на продуктивные качества свиней породы ландрас**

##### **4.4.1. Воспроизводительные качества свиней различных генотипов по гену MC4R с учетом линейной принадлежности**

Полиморфный характер гена MC4R, как правило, связывают с энергией роста, толщиной шпика и использованием корма. Биологические особенности обмена в белках меланокортина позволяют предположить, что полиморфизм гена MC4R может влиять на различные функциональные способности в регулировании не только энергии роста, толщины шпика и использование корма, но и репродуктивных признаков. В связи с этим нами был проведен анализ воспроизводительных качеств свиноматок линий Лорда, Лексса и Ларса 2010 года рождения. Оценка влияния генов на воспроизводительные качества этих животных проводилась по данным первых трех опоросов.

Анализ воспроизводительных качеств свиноматок линии Лорда в зависимости от генотипов гена MC4R не показал достоверного влияния данного гена на количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда при рождении (табл.16).

Однако, свиноматки генотипа AA, относительно аналогов генотипа GG имели большее количество поросят при рождении на 1,2 гол. (8,5%), многоплодие на 0,9 гол.(7,05%), и массу гнезда при рождении на 1,5 кг (8,06%).

Таблица 16 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Лорда различных генотипов по гену MC4R (n=29)

Генотип	Количество поросят при рождении, гол	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
AA	15,01 ±0,82	13,82 ±0,74	20,11 ±1,11	73,95±7,15	88,97±6,78
AG	13,62 ±0,56	12,04 ±0,51	17,42 ±0,70	72,87±6,89	84,86±4,38
GG	13,83 ±0,83	12,91 ±0,67	18,61±1,04	71,97±5,13	85,98±5,13

Аналогичные исследования были проведены в линии Лексса. В результате проведенных исследований установлено влияние полиморфизма гена MC4R на воспроизводительные качества свиноматок линии Лексса (табл.17).

Таблица 17 - Воспроизводительные качества свиноматок линии Лексса различных генотипов по гену MC4R (n=21)

Геноти п	Количество поросят при рождении, гол	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
AA	12,72 ±0,83	11,91±0,87	16,48±1,11	64,75± 4,56	91,82 ±5,21
AG	13,68 ±0,35*	12,53±0,59*	17,88±0,58*	69,48 ±5,20	96,87± 4,32
GG	12,55 ±0,51	11,2±0,64	15,28±0,67	68,91 ±7,25	95,96± 5,32

\* P<0,05 (разность между генотипами AG-(AA+GG)/2)

Свиноматки гетерозиготного генотипа AG линии Лексса превосходили аналогов гомозиготных генотипов (AA и GG) по количеству поросят при рождении, многоплодию и массе гнезда при рождении на 1,04 гол. (8,3%, P<0,05), 0,98 гол. (8,8%, P<0,05) и 2,1 кг (13,1%, P<0,05), соответственно.

Анализ воспроизводительных качеств свиноматок линии Ларса в зависимости от генотипов гена MC4R показал наличие достоверного влияния данного гена на количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда при рождении (табл.18).

Таблица 18 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Ларса различных генотипов по гену MC4R (n=13)

Генотип	Количество поросят при рождении, гол	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, гол	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
AA	-	-	-		
AG	14,92±0,68*	13,72±0,66*	19,23±0,91**	69,21± 4,21	89,37 ±5,32
GG	12,94±0,66	11,11±0,24	15,81±0,68	72,35 ±3,06	87,16 ±4,23

\*P<0,05, \*\*P<0,01 (разность между генотипами AG и GG)

Свиноматки генотипа AG, относительно аналогов генотипа GG имели большее количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда при рождении на 2,0 гол. (15,3%, P<0,05); 2,6 гол. (23,5%, P<0,05) и 3,4 кг (21,6%, P<0,01), соответственно. Свиноматки генотипа AA в связи с малым количеством (n=1) при анализе рассматривались в группе свиноматок генотипа AG.

В результате проведенных исследований воспроизводительных качеств свиноматок породы ландрас, в линиях Лексса и Ларса установлено влияние гетерозиготного генотипа AG гена MC4R на количество поросят при рождении и многоплодие.

#### 4.4.2. Откормочные и мясные качества свиней различных генотипов по гену MC4R

В отечественных и зарубежных источниках литературы имеется небольшое количество данных по изучению воспроизводительных качеств свиней, как правило, полиморфизм гена MC4R связывают с откормочными и мясными показателями продуктивности свиней. Наличие аллеля G связывают с высокими значениями постного мяса в туше, глубиной мышц К. Cíváňová и А. Knoll (2007), К. Kim и др. (2000) и V. Dvořáková и др. (2011), Г.В. Максимов и др. (2011), А. Klímenko и др. (2014). С другой стороны, имеются данные, что аллель G связан с плодовитостью животных в линии, которая была получена путем скрещивания китайской породы мейшан с линией крупной белой породы. Этот результат можно объяснить неравновесием по сцеплению между анализируемой мутацией и причинами мутации в этой линии свиней, а также с эпистатическим эффектом или выборкой животных (К. Kim и др., 2007).

В результате проведенного нами анализа откормочных и мясных качеств свиней породы ландрас установлено достоверное влияние генотипов гена MC4R (табл.19).

В линии Лорда 2010 года рождения свиньи генотипа AG гена MC4R, в сравнении с аналогами генотипа GG, имели лучшие показатели по скороспелости на 6,1 дн. (3,7%,  $P < 0,01$ ) и по среднесуточному приросту на 62,9 г (7,5%,  $P < 0,01$ ). Свиньи генотипа AA также обладали хорошими показателями по скороспелости, среднесуточным приростам и длине туловища они превосходили аналогов генотипа GG на 3,7 дн. (2,3%,  $P < 0,05$ ), 72,6 г (8,6%,  $P < 0,01$ ) и 3,3 см (2,7%,  $P < 0,05$ ), соответственно, незначительно уступая по толщине шпика.

Свиньи линии Лорда 2013 года рождения генотипа AA по всем рассматриваемым параметрам превосходили аналогов других генотипов. Так, относительно свиней генотипа GG они имели лучшую скороспелость на 7,9 дн.

(4,7%,  $P<0,01$ ), среднесуточный прирост на 49,3 г (6,6%,  $P<0,01$ ), длину туловища на 1,6 см (1,3%) и меньшую толщину шпика на 1,7 мм (13,6%,  $P<0,01$ ).

Таблица 19 – Результаты контрольного выращивания свинок линии Лорда различных генотипов гена MC4R

Генотип	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свиньи линии Лорда 2010 года рождения (n=29)				
AA	158,29±1,03*	11,14±0,70	126,43±1,57*	916,57±24,24**
AG	155,82±1,82**	10,82±0,53	125,55±1,11	906,91±21,33**
GG	161,93±1,58	11,07±0,39	123,14±1,12	844,00±22,14
Свиньи линии Лорда 2013 года рождения (n=116)				
AA	159,94±2,23**	11,00±0,58**	123,88±0,85	800,63±19,50**
AG	165,44±1,41	12,96±0,28	123,02±0,56	781,27±10,81
GG	167,83±1,31	12,73±0,31	122,28±0,62	751,30±10,30

\* $P<0,05$ ; \*\* $P<0,01$  разность между генотипами GG и AA (AG)

Соответственно полученным данным в качестве желательного генотипа в линии Лорда следует определить генотип AA гена MC4R. Данный генотип связан с высокими показателями по скороспелости и среднесуточным приростам. При закреплении данного генотипа в линии следует иметь в виду, что генотип AA гена MC4R теоретически может быть связан с повышением толщины шпика. Поэтому в линии, наряду с генотипом AA, необходимо закреплять генотипы по генам, имеющим прямое влияние на толщину шпика. Это поможет преодолеть нежелательный тренд между воспроизводительными качествами и толщиной шпика.

При оценке влияния генотипов на откормочные и мясные качества свиной линии Лексса 2010 года рождения установлено, что свиньи генотипа AG гена MC4R по сравнению с аналогами генотипов AA и GG отличались в среднем

лучшей скороспелостью на 4,9 дн. (3%,  $P<0,05$ ), среднесуточными приростами на 68,5 г (8,4%,  $P<0,05$ ) и меньшей толщиной шпика на 0,23 мм (1,8%,  $P<0,05$ ), незначительно уступая по длине туши (табл. 20).

Аналогичные закономерности наблюдались у свиней линии Лексса 2013 года рождения, для которых наличие генотипа AG гена MC4R, относительно аналогов генотипов AA и GG, связано с лучшей средней скороспелостью на 6,3 дн. (3,8%,  $P<0,05$ ), среднесуточными приростами на 54,4 г (7,4%,  $P<0,05$ ), длиной туловища на 1,1 см (0,87%) и меньшей толщиной шпика на 1,1 мм (7,4%,  $P<0,01$ ).

Таблица 20 – Результаты контрольного выращивания свинок линии Лексса различных генотипов гена MC4R

Генотип	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свиньи линии Лексса 2010 года рождения (n=21)				
AA	160,50±1,77	12,67±0,73	125,83±1,17	836,33±31,36
AG	156,00±1,97*	12,30±0,84*	127,40±1,28	886,50±25,15*
GG	161,20±1,90	12,40±0,68	127,60±0,62	800,00±33,61
Свиньи линии Лексса 2013 года рождения (n=93)				
AA	167,46±2,01	14,69±0,37	123,77±2,39	769,92±18,36
AG	161,45±2,88*	13,39±0,38 **	121,97±0,57	815,65±13,87*
GG	168,09±2,61	14,23±0,76	122,32±1,02	752,55±20,79

\*  $P<0,05$ ; \*\*  $P<0,01$  (разность между генотипами AG-(AA+GG)/2)

Таким образом, в результате комплексного исследования влияния генотипов гена MC4R на продуктивные качества свиней линии Лексса можно заключить, что наличие гетерозиготного генотипа AG связано с высокими показателями откормочных (в частности наибольшее влияние отмечено на показатель скороспелости животных) и воспроизводительных качеств.

При необходимости выбора гомозиготного линейного генотипа по гену MC4R следует иметь в виду, что генотип AA в большей степени связан с обеспечением прогресса по воспроизводительным качествам (повышение многоплодия) и повышением толщины шпика, а генотип GG с мясными качествами.

В результате проведенного анализа генотипов гена MC4R на откормочные и мясные качества свиней линии Ларса было установлено достоверное влияние (табл. 21).

Таблица 21 – Результаты контрольного выращивания свинок линии Ларса различных генотипов гена MC4R

Генотип	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свиньи линии Ларса 2010 года рождения (n=13)				
AA	-	-	-	-
AG	158,00±2,51*	10,33±0,84	123,33±1,89	866,67±35,53
GG	163,67±2,81	11,00±0,68	122,50±1,80	807,00±33,60
Свиньи линии Ларса 2013 года рождения (n=54)				
AA	159,14±4,17	10,29±0,94	123,86±1,71	799,43±48,17
AG	158,71±1,78**	11,29±0,43	123,13±0,65	808,92±18,85
GG	165,94±2,22	11,94±0,60	120,25±1,07	780,19±20,84

\* P<0,05 \*\* P<0,01 (разность между генотипами GG и AG)

Наилучшие показатели по всем оцениваемым признакам откормочных и мясных качеств имели свиньи линии Ларса 2010 года рождения генотипа AG гена MC4R. Они отличались лучшей скороспелостью на 5,7 дн. (3,4 %, P<0,05), среднесуточным приростом на 59,3 г (7,3%) и меньшей толщиной шпика на 0,7

мм (6 %) по сравнению с аналогами генотипа GG. Свиньи генотипа AA в данной выборке отсутствовали. В линии Ларса 2013 года рождения достоверного влияния генотипа AA, относительно генотипа GG, установлено не было, но имеется тенденция к лучшей скороспелости на 6,8 дн. (4,2 %), среднесуточному приросту на 19,2 г (2,4%), длине туловища на 3,6 см (3 %) и меньшей толщине шпика на 1,65 мм (13,8 %). Свиньи линии Ларса 2013 года рождения генотипа AG достоверно превосходили аналогов генотипа GG по скороспелости на 7,23 дн. (4,4%,  $P < 0,01$ ) и среднесуточным приростам, толщине шпика, длине туловища на 28,73 г (3,7%); 0,65 мм (5,4%); 2,88 см (2,4%), соответственно.

Таким образом, результаты четко показывают эффект аллеля A, наличие которого в генотипе животного обеспечивает высокую продуктивность, на основании этого в качестве желательных установлены генотипы AA и AG. Тем не менее, в зависимости от целей и задач селекционной работы, необходимо подбирать желательный генотип. На данном этапе, для линии Ларса для дальнейшего закрепления рекомендуется генотип AG гена MC4R, который связан с высокими показателями по скороспелости и хорошими воспроизводительными качествами свиноматок.

Исследованию влияния гена MC4R на откормочные и мясные качества свиней посвящено достаточно много исследований и накоплены определенные результаты. К. Kim и др. (2000) первыми опубликовали информацию о влиянии полиморфизма гена MC4R (Asp298Asn) и связи аллеля G с ростом, конверсией корма и толщиной шпика у свиней.

Согласно исследованиям А. Klimenko и др. (2014), для повышения откормочных и мясных качеств у свиней крупной белой породы и ландрас выступал генотип AG. Объяснить это можно тем, что частичное блокирование сигнала лептина увеличивало скорость роста свиней. Гомозиготный генотип GG был более благоприятным для улучшения мясных качеств.

Исследования, проведенные R. Houston и др. (2004), И.К. Лядским и др. (2011) показали позитивную корреляцию между аллельными состояниями гена MC4R и толщиной спинного сала различных пород свиней, у которых присутствие аллеля А в генотипе соотносилось с большим накоплением жира. Эти результаты подтверждены во многих работах, на основании которых можно сделать следующие выводы. Во-первых, аллель G, представляющий Asp298, консервативную аминокислоту в других подтипах MCR, связан с меньшей толщиной шпика, меньшими темпами роста, но с лучшими мясными качествами. Во-вторых, аллель A, представляющий Asn298, связан с более жирными, потребляющими больше корма, но более скороспелыми и плодовитыми животными.

Результаты, полученные нами на свиньях породы ландрас в условиях ЗАО «Племзавод-Юбилейный» показали, что в качестве желательных генотипов, связанных с лучшими показателями продуктивности и рекомендуемыми для дальнейшего закрепления определены генотип AA - в линии Лорда и генотип AG – в линиях Лексса и Ларса.

#### **4.5. Распределение частот аллелей и генотипов гена PRLR у свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса и Ларса**

В настоящее время ген рецептора пролактина (PRLR) рассматривается в качестве информативного гена-маркера плодовитости свиней. По своей структуре и биологическим свойствам пролактин имеет общие черты с гипофизарным гормоном роста (GH). 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.

Ген PRLR у свиней картирован в 16 хромосоме, а его AluI полиморфизм обуславливает наличие трех генотипов AA, BB и AB. По результатам секвенирования было выявлено, что полиморфизм PRLR/AluI обусловлен миссенс-мутацией G1789A (rs45435440), которая приводит к аминокислотной замене Gly597Ser (GenBank DQ157757) (A. Vincent и др., M. Rothschild, 1998).

C. Drogemüller и др., (2001) была показана связь между генотипами гена PRLR и репродуктивными качествами свиней, такими как количество поросят при рождении и многоплодие. Механизм, посредством которого PRLR влияет на размер помета остается неизвестным (A. Barreras Serrano, 2009; N. Mikhailov и др., 2014).

Многие исследования по этому вопросу показали, что желательный генотип, определяющий уровень продуктивности по гену PRLR для свиней разных пород и линий не является универсальным. Для использования данного гена в качестве маркера продуктивности в селекционной работе необходимо проведение предварительных исследований с учетом породной и линейной принадлежности свиней (M. Kmiec, 2004; A. Terman, 2005; Q. Liu и др., 2012; N. Mikhailov и др., 2014; Л.В. Гетманцева, 2014).

В связи с вышесказанным нами были проведены исследования полиморфизма гена PRLR у свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса и Ларса.

ПЦР-ПДРФ анализ фрагмента гена PRLR длиной 163 п.н. проводили с использованием рестриктазы AluI. Размер полученных рестрикционных фрагментов определяли методом электрофореза в 2,5%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия (рис.11).

Рестриктаза AluI режет ПЦР фрагмент на части длиной 85, 59, 19 п.н., что соответствует генотипу AA, фрагменты длиной 104 и 59 п.н. - генотипу BB, фрагменты длиной 104, 85, 59 и 19 п.н. - генотипу AB.

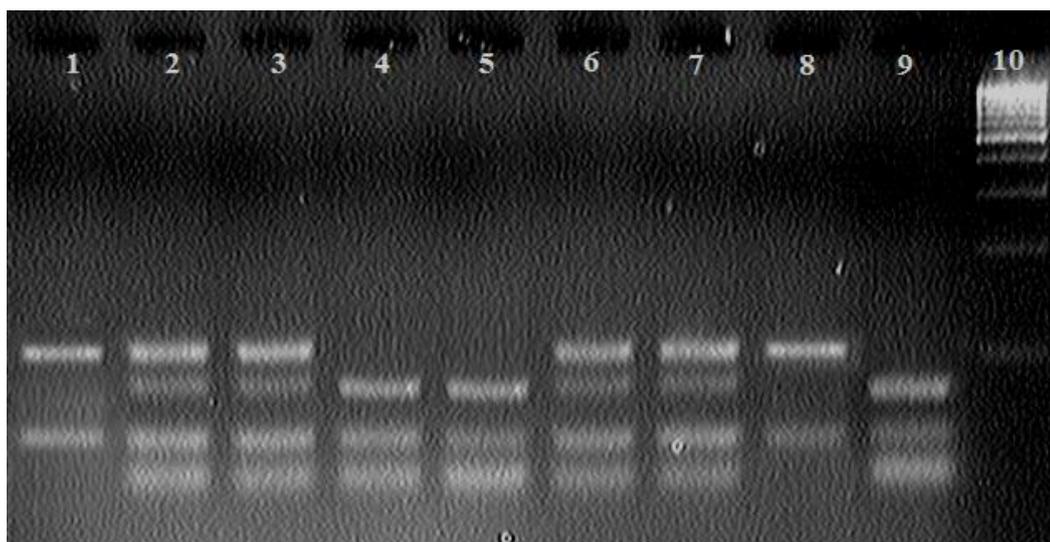


Рис.11. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена PRLR в 2,5% агарозном геле

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

В результате исследований частоты аллелей и генотипов гена PRLR у свиней породы ландрас были обнаружены три генотипа гена PRLR: AA, AB и BB. Учет аллельных вариантов показал, что во всей исследуемой выборке явным приоритетом располагает аллель A (табл.22).

Наибольшая частота аллеля A наблюдалась у свиней линии Ларса 2013 года рождения (0,75). В линиях Лорда и Ларса 2013 года рождения, а также Лексса 2010 года рождения аллель A был закреплен практически с одинаковой частотой (0,73; 0,75; 0,73, соответственно). Самая низкая частота аллеля B была определена у свиней линии Ларса 2013 года рождения (0,25). Наибольшую частоту аллель B имел у свиней линии Лексса 2013 года рождения (0,42). Гомозиготный генотип BB в исследуемой популяции также отличался низкой частотой. Так, в линии Лексса 2010 года рождения генотип BB встречался с частотой 4,2 %, а в линии Ларса 2013 года рождения свиные генотипа BB отсутствовали.

Таблица 22 – Частота аллелей и генотипов гена PRLR у свиной породы ландрас

Линия	Выборка, n	Частота аллелей		Частота генотипов					
		А	В	АА		АВ		ВВ	
				n	%	n	%	n	%
Свиньи 2010 года рождения									
Лорд	29	0,66	0,34	15	48,4	10	35,5	4	16,1
Лексс	21	0,73	0,27	11	50,0	9	45,8	1	4,2
Ларс	13	0,66	0,34	7	53,8	3	23,1	3	23,1
Свиньи 2013 года рождения									
Лорд	116	0,73	0,27	63	53,4	44	38,1	9	8,5
Лексс	93	0,58	0,42	42	29,7	41	56,8	10	13,5
Ларс	54	0,75	0,25	34	51,2	20	48,8	0	0,0

В исследованиях N. Mikhailov и др. (2014) на свиноматках крупной белой породы отечественной селекции было установлено наличие всех трех генотипов АА, АВ и ВВ с частотой 24,5; 32,6; 42,9% соответственно. Частота аллеля В составила 0,59, аллеля А – 0,41.

В исследованиях проведенных R. Omelka (2008) на свиньях породы польский ландрас (n=132) частота аллеля А составила 0,46, частота аллеля В- 0,5. В распределении частот генотипов доминировал АВ, частота которого составила 57,5 %, что согласуется с результатами наших исследований в группе Лексса 2013 года рождения.

По данным результатов исследования A. Ziulkowska (2010), проведенных на свиньях породы польский ландрас (n=35), частота аллеля А была 0,48, аллеля В-0,51. Наибольшей частотой обладал гетерозиготный генотип АВ (0,50), частоты гомозиготных генотипов были практически одинаковыми и встречались реже.

Исследования, проведенные А.И. Толоконцевым (2012) на свиньях породы ландрас линии Символа по изучению генетической конструкции линии в двух поколениях показали, что в первом поколении частоты аллелей и генотипов

распределились следующим образом: AA – 9%; AB – 73%; BB – 18%, с частотой аллеля А – 0,45; аллеля В – 0,55. Во втором поколении частота генотипа AA составила 20%, а генотипа АВ - 65%, генотип BB снизился с 18% до 14%. Частота аллеля А составила– 0,53, аллеля В – 0,47.

Таким образом, сравнивая полученные нами данные с исследованиями других ученых, можно отметить различия частот аллелей и генотипов гена PRLR у свиней в зависимости от породной и линейной принадлежности.

#### **4.6. Влияние генотипов гена PRLR на продуктивные качества свиней породы ландрас**

##### **4.6.1. Воспроизводительные качества свиней различных генотипов по гену PRLR с учетом линейной принадлежности**

Оценка влияния генов проводилась по данным первых трех опоросов свиноматок линии Лорда, Лексса и Ларса 2010 года рождения. Анализ воспроизводительных качеств свиноматок линии Лорда в зависимости от генотипов гена PRLR показал наличие достоверного влияния данного гена на количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда при рождении (табл.23).

Таблица 23 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Лорда различных генотипов гена PRLR (n=29)

Гено тип	Количество поросят при рождении, гол	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
AA	14,72 ± 0,69**	13,51±0,55**	19,62±0,80**	78,54±5,68	91,85±10,25
AB	14,18 ± 0,78	12,83 ± 0,75	18,51±1,05	71,64±7,52	85,68 ± 8,35
BB	12,45 ± 0,29	11,82 ± 0,58	16,10±0,30	68,73±5,02	82,54 ± 7,35

\*\*P<0,01 (разность между генотипами AA и BB)

В качестве желательного генотипа по гену PRLR был установлен генотип AA. Свиноматки генотипа AA по сравнению с аналогами генотипа BB имели большее количество поросят при рождении, многоплодие, массу гнезда при рождении на 2,3 гол. (18,2%,  $P<0,01$ ) и 1,7 гол. (14,3%,  $P<0,01$ ) и 3,5 кг (21,7%,  $P<0,01$ ), соответственно.

У свиноматок имеющих генотип AA, по сравнению с аналогами генотипа BB, наблюдалась положительная тенденция к увеличению массы гнезда в 21 день и массе гнезда при отъеме на 9,8 кг (14,3%) и 6,17 кг (7,2 %), соответственно. Свиноматки генотипа AB по воспроизводительным качествам занимали промежуточное положение. Следовательно, концентрация желательного аллеля A/PRLR в генотипе животных способствует повышению воспроизводительных качеств свиноматок линии Лорда.

Аналогичные исследования были проведены в линии Лексса. В результате анализа было установлено влияние полиморфизма гена PRLR на воспроизводительные качества свиноматок линии Лексса (табл.24).

Таблица 24 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Лексса различных генотипов гена PRLR (n=21)

Генотип	Количество поросят при рождении, гол	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
AA	13,84 ± 0,46*	12,88 ± 0,39*	17,53±0,96	69,91±4,32	95,68±6,52
AB	12,41 ± 0,52	11,62 ± 0,48	16,51±0,79	65,51±6,32	93,92±5,62
BB	-	-	-	-	-

\*  $P<0,05$  (разность между генотипами AA и AB)

В линии Лексса генотип ВВ гена PRLR встречался только у одной свиноматки, что было недостаточно для анализа. По результатам анализа воспроизводительных качеств свиноматки генотипа АА гена PRLR, по сравнению с аналогами генотипа АВ, имели большее количество поросят при рождении, многоплодие и массу гнезда при рождении, массу гнезда в 21 день и массу гнезда при отъеме на 1,4 гол. (11,5%,  $P<0,05$ ), 1,3 гол. (10,8%,  $P<0,05$ ), 1 кг (6,2%), 4,4 кг (6,7 %) и 1,76 кг (1,9 %) соответственно. В качестве желательного по гену PRLR в линии Лексса установлен генотип АА.

В результате проведенного анализа воспроизводительных качеств в линии Ларса в зависимости от генотипов гена PRLR было установлено влияние генотипа АА гена PRLR, наличие которого относительно аналогов генотипа ВВ связано с лучшими показателями по количеству поросят при рождении и многоплодию на 1,33 гол. (10,6%) и 1,3 гол. (10,9%,  $P<0,05$ ), соответственно (табл. 25).

Таблица 25 – Воспроизводительные качества свиноматок линии Ларса различных генотипов гена PRLR (n=13)

Генотипы	Количество поросят при рождении, гол	Многоплодие, гол.	Масса гнезда		
			при рождении, кг	в 21 дн., кг	при отъеме, кг
АА	13,91±0,65	13,21±0,54*	17,41±0,90	68,82±5,23	88,21±2,35
АВ	14,11 ± 0,31	12,45 ± 0,62	17,51±0,74	69,74±6,71	86,45±3,21
ВВ	12,58 ± 0,42	11,91± 0,31	18,14±0,63	73,64±3,21	90,12±4,21

\*  $P<0,05$  (разность между генотипами АА и ВВ)

Таким образом, в качестве желательного по воспроизводительным качествам генотипа, рекомендуемого для закрепления в линии Ларса, выступает генотип AA гена PRLR.

Результаты наших исследований согласуются с A. Vincent и др. (2002), A. Terman и др. (2005), L. Qing-Yu и др. (2012), где с генотипом AA связывали превосходство по количеству поросят при рождении и многоплодию. Но имеются и противоположные результаты у C. Drogemüller и др. (2001), A. Barreras-Serrano и др. (2009), N. Kernerová и др. (2009) в работах которых показана связь генотипа BB гена PRLR с лучшими показателями по количеству поросят при рождении и многоплодием.

Исследования, проведенные А.И. Толоконцевым (2012) по гену PRLR на свиньях породы ландрас линии Символа в двух поколениях показали, что наличие генотипа AA у свиноматок первого поколения, относительно аналогов генотипов АВ и ВВ, было связано с лучшими показателями по количеству поросят при рождении на 0,3 и 0,7 гол., соответственно.

Анализируя полученные нами результаты установлено, что ген PRLR может использоваться как эффективный маркер плодовитости свиней. Но важно отметить, что использование тестирования животных по гену PRLR в программах племенного отбора должно непременно сопровождаться изучением взаимосвязи его аллельного полиморфизма с продуктивными качествами в конкретных популяциях, на фоне существующего «группового генотипа».

#### **4.6.2. Откормочные и мясные качества свиней различных генотипов по гену PRLR**

Изучению влияния гена PRLR на воспроизводительные качества свиней посвящено большое количество работ, в то время как влияние на откормочные и

мясные качества рассматривается редко. В связи с этим были проведены исследования влияния генотипов гена PRLR на откормочные и мясные качества свиней линии Лорда, Лексса и Ларса.

Для анализа в линии Лорда использовались результаты контрольного выращивания свинок линии Лорда 2010 (n=29) и 2013 года рождения (n=116).

В результате анализа материалов, полученных в ходе оценки линии Лорда и было установлено влияние генотипов гена PRLR на откормочные и мясные качества свиней (табл. 26).

Таблица 26 – Результаты контрольного выращивания свинок линии Лорда различных генотипов гена PRLR

Генотип	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свиньи линии Лорда 2010 года рождения (n=29)				
AA	158,67±2,07	11,47±0,42	124,73±1,11	877,60±19,82
AB	161,09±2,38	10,73±0,35	124,45±1,23	880,82±30,22
BB	157,60±1,55	10,20±0,48*	124,80±1,47	863,00±32,91
Свиньи линии Лорда 2013 года рождения (n=116)				
AA	165,97±1,34	12,49±0,27	122,15±0,54	772,53±11,07
AB	167,80±1,24	13,46±0,33	123,49±0,61	785,41±9,46
BB	164,49±3,48	11,98±0,58	122,93±0,85	769,33±20,80

\* P<0,05 (разность между генотипами AA и BB)

При изучении влияния генотипов гена PRLR на откормочные и мясные качества свиней было установлено достоверное влияние только на толщину шпика в линии Лорда у свиней 2010 года рождения. Свиньи генотипа BB, относительно генотипа AA, имели меньшую толщину шпика на 1,3 мм (11 %,

$P < 0,05$ ). По другим признакам достоверного влияния не установлено, но наблюдается, что свиньи гомозиготных генотипов AA и BB отличались лучшей скороспелостью на 2,4 дн. (1,5%) и 3,5 дн. (2,2 %), соответственно по сравнению с аналогами генотипа AB. Данная тенденция прослеживалась и в группе 2013 года рождения линии Лорда, в которой наличие генотипов AA и BB связано с лучшей скороспелостью на 1,83 дн. (1,1%) и 3,3 дн. (2,0%), соответственно относительно генотипа AB.

Таким образом, полученные результаты не показали однозначного влияния на показатели откормочных и мясных качеств свиней в зависимости от генотипов гена PRLR. При этом влияние гомозиготного генотипа BB на толщину шпика, отмеченного в линии Лорда, необходимо учитывать при разработке селекционных программ с использованием гена PRLR в качестве ДНК-маркера. На основе данных, полученных ранее по воспроизводительным качествам, для животных линии Лорда с целью повышения многоплодия рекомендуется закрепление генотипа AA/PRLR. Наличие данного генотипа будет способствовать повышению продуктивных качеств, а гомозиготность по гену PRLR в линии обеспечит передачу желательного генотипа потомству.

Результаты генотипирования свиней линии Лексса 2010 года рождения показали, что животные генотипа BB имели низкую частоту ( $n=1$ ), в связи этим не были включены в анализ. В линии Лексса достоверного влияния генотипов гена PRLR на откормочные и мясные качества установлено не было. Следует отметить, что у животных линии Лексса 2010 и 2013 года рождения, имеющих генотип AA, относительно особей других генотипов, наряду с повышенными воспроизводительными показателями, установленными ранее, были лучшие результаты по толщине шпика 0,8 мм (6,2%) и 1,23 мм. (8,5%), соответственно.

В результате исследований установлено, что генотип AA гена PRLR имеет сильное влияние на воспроизводительные качества свиноматок линии Лексса, при

этом практически отсутствует отрицательный эффект на откормочные и мясные качества (табл.27).

Таким образом, в качестве желательного генотипа для дальнейшей работы с линией Лексса рекомендуется использовать генотип АА гена PRLR, который будет способствовать повышению воспроизводительной продуктивности свиноматок и сохранению высоких показателей по откормочным и мясным признакам.

Таблица 27 – Результаты контрольного выращивания свинок линии Лексса различных генотипов гена PRLR

Генотип	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свиньи линии Лексса 2010 года рождения (n=21)				
АА	157,61±1,88	12,10±0,72	127,41±0,79	848,90±36,11
АВ	158,80±2,71	12,91±0,75	126,90±1,27	850,50±32,52
ВВ	-	-	-	-
Свиньи линии Лексса 2013 года рождения (n=93)				
АА	165,58±1,63	13,17±0,44	123,15±1,52	777,56±12,81
АВ	166,51±1,62	14,57±0,39	122,76±0,64	767,88±16,34
ВВ	162,80±3,25	14,41±0,99	121,80±1,13	771,70±25,59

Анализ откормочных и мясных качеств свиней линии Ларса, аналогично линиям Лорда и Лексса, не выявил достоверного влияния генотипов гена PRLR (табл.28). Показатели откормочных и мясных качеств свиней не зависели от генотипов рассматриваемого гена. Свиньи линии Ларса 2010 года рождения генотипов АА, АВ и ВВ имели практически одинаковую скороспелость 161,2; 160,8 и 161,3 дн., соответственно, а также толщину шпика, длину туловища и среднесуточный прирост. Аналогичная картина прослеживается и у свиней этой

же линии 2013 года рождения, при этом, следует отметить, что отсутствие животных генотипа ВВ в данной группе, возможно связано с направлением селекционно-племенной работы.

Таблица 28 – Результаты контрольного выращивания свинок линии Ларса различных генотипов гена PRLR

Генотип	Скороспелость, дн.	Толщина шпика, мм	Длина туловища, см	Среднесуточный прирост, г
Свины линии Ларса 2010 года рождения (n=13)				
АА	161,20±1,96	10,90±0,57	122,60±1,24	837,60±27,88
АВ	160,80±0,87	11,05±1,01	122,73±0,78	850,00±18,05
ВВ	161,32±0,94	10,87±0,97	121,99±0,81	848,19±21,20
Свины линии Ларса 2013 года рождения (n=54)				
АА	161,44±1,61	11,65±0,41	122,06±0,69	804,62±14,83
АВ	160,20±2,55	11,25±0,55	122,65±0,97	795,25±27,88
ВВ	-	-	-	-

Отсутствие влияния на откормочные и мясные качества, наряду с ранее установленным эффектом генотипов на воспроизводительные признаки свиноматок, позволяет рассматривать ген PRLR как перспективный ген-маркер плодовитости свиней.

Соответственно, для закрепления в линии Ларса рекомендуется гомозиготный генотип АА для создания группового генотипа. Закрепление данного генотипа будет способствовать повышению воспроизводительных качеств, без ущерба для откормочных и мясных показателей. Ведение селекции традиционными методами, в данной ситуации, повлечет за собой повышение частоты В аллеля в популяции за счет гетерозиготного генотипа АВ и возвращение гомозиготного генотипа ВВ. В связи с этим возможность прямого

определения генотипов позволит отбирать животных генотипа АА и не только сохранить эффект селекции, полученный на данном этапе, но и повысить его за счет увеличения доли животных с желательным генотипом.

Анализ литературных источников показал, что многими отечественными и зарубежными учеными было установлено достоверное влияние генотипов гена PRLR на плодовитость свиней. В то же время, практически отсутствует информация о возможных плеiotропных эффектах и влиянии гена на мясные и откормочные качества. В работах V. Alonso и др. (2003) было показано, что свиньи генотипа АА имеют лучшие среднесуточные приросты. С.Н. До и др. (2012) установили связь между генотипом АА и высокими откормочными показателями. В исследованиях проведенных N. Mihailov и др. (2014) установлено, что гибриды ЛхЙхД генотипа АА имели лучшие мясные, а свиньи ландрас канадской селекции генотипа АВ – лучшие откормочные показатели.

Таким образом, полученные результаты в исследуемых линиях свидетельствуют о взаимосвязи полиморфизма гена PRLR с воспроизводительными показателями и отсутствием влияния на откормочные и мясные признаки. В качестве желательного, рекомендуемого для дальнейшего закрепления в породе ландрас, установлен генотип АА.

#### **4.7. Экономическая эффективность генотипирования в селекции свиней**

Возможность практического использования результатов выполненной научно-исследовательской работы является весьма существенным фактором с точки зрения производственной деятельности в контексте задачи повышения экономической эффективности отрасли. Следовательно, выводы о целесообразности внедрения полученных результатов в производство должны делаться на основе их экономического анализа. Для этого нами была выбрана

экономическая модель, учитывающая специфику исследований и полученные результаты. С учетом указанных предпосылок экономическая модель анализа эффективности применения ДНК-маркеров предусматривала расчет себестоимости молодняка месячного возраста, полученного от свиноматок с различными генотипами. Источником дохода является выручка от реализации произведенного молодняка. В качестве критерия эффективности использовалась разница в прибыли из расчета на одну свиноматку.

Проведение отбора с учетом ДНК-маркеров позволяет повысить долю животных желательных генотипов в популяции и, как следствие, обеспечивает дополнительное производство продукции.

В частности, если рассмотреть ДНК-маркер лейкомиа-ингибирующего фактора, то желательный генотип АА характеризуется более высокими показателями многоплодия свиноматок и массы гнезда при отъеме по сравнению со средними значениями в популяции. Следовательно, при одной и той же численности поголовья основных свиноматок в зависимости от частоты желательного генотипа может быть получено различное количество молодняка, который и является реализуемой продукцией.

При расчете себестоимости одного поросенка учитывались затраты на кормление свиноматки (табл.29) и проведение искусственного осеменения. Для свиноматок с желательным генотипом в структуру себестоимости поросят были дополнительно включены затраты на ДНК-диагностику.

Данные в таблице 29 показывают, что затраты на кормление свиноматки в течение цикла воспроизводства составляют 7150,9 руб.

При расчете расходов на искусственное осеменение определим среднее количество спермодоз на одну голову равным 1,5 спермодозы по цене 475 руб/доза.

Таким образом, затраты на осеменение одной головы составляют:

$$475 \times 1,5 = 712 \text{ руб.}$$

Итого получаем:

$$7\,151 \text{ руб.} + 712 \text{ руб.} = 7\,863 \text{ руб.}$$

Таблица 29 – Затраты на кормление свиноматки

Периоды	Сроки, дн.	Потребление корма в сутки, кг	За период, кг	Цена комбикорма, руб./кг	Затраты, руб.
Холостой	14	2,8	39,2	11	431,2
Супоросный					
(2/3)	78	2,8	218,4	11	2402,4
(1/3)	37	3,3	122,1	13	1587,3
Подсосный	35	6	210	13	2730
Итого	164	—	589,7	—	7150,9

Пользуясь данными о том, что корма и осеменение в себестоимости содержания свиноматки в течение цикла воспроизводства составляют 70%, определим общую себестоимость гнезда возрастом 1 месяц:

$$7\,863 \text{ руб.} \times 100 / 70 = 11\,233 \text{ руб.}$$

В среднем по породе ландрас количество поросят в гнезде составляет 12,0 поросят. Следовательно, себестоимость одного поросенка составляет:

$$11\,233 \text{ руб.} / 12,0 = 936 \text{ руб.}$$

Поскольку обеспечение наличия в поголовье основных свиноматок только желательных генотипов предполагает проведение ДНК-тестирования, стоимость которого составляет 200 руб. из расчета на одну голову, себестоимость гнезда, полученного от свиноматки с желательным генотипом, составляет:

$$11\,233 \text{ руб.} + 200 \text{ руб.} = 11\,433 \text{ руб.}$$

В гнезде свиноматок с желательным генотипом в среднем 12,9 поросят. Следовательно, себестоимость одного поросенка составляет:

$$11\,433 \text{ руб.} / 12,9 = 886 \text{ руб.}$$

Средний вес поросенка, полученного от свиноматок желательного генотипа, при реализации в возрасте 1 мес. составляет 7,4 кг, а в среднем по породе – 7,2 кг. При реализационной стоимости 1 кг живой массы 250 руб. выручка от продажи одного поросенка составит 1850 руб. и 1800 руб. в первом и втором случае соответственно.

Селекционный центр «Лозовое» имеет мощность в 2000 свиноматок, от которых в среднем получают 2,2 опороса в год. Данные об общих затратах, выручке и доходе от продажи поросят в возрасте 1 мес. в зависимости от генотипа свиноматок представлены в таблице 30.

Таблица 30 – Расчет прибыли от реализации поросят в возрасте 1 мес.

Генотип	Общее кол-во 1-месячных поросят, полученных за год, гол.	Общая себестоимость получения 1-месячных поросят, тыс. руб.	Общая выручка от реализации, тыс. руб.	Прибыль, тыс. руб.
Желательный	56 760	50 289,4	105 006	54 716,6
В среднем по породе	52 800	49 420,8	95 040	45 619,2

Таким образом, дополнительная прибыль от получения и использования племенного поголовья свиноматок с желательным генотипом по гену LIF из расчета на одну свиноматку составила  $(54\,716,6 - 45\,619,2) / 2000 = 4\,548,72$  руб. Это свидетельствует о высокой экономической эффективности использования ДНК-диагностики по гену-маркеру LIF в селекции свиней.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований сделаны следующие выводы, предложения производству и рекомендации по перспективам дальнейшей разработки темы.

### Выводы

1. У свиней породы ландрас линий Лорда, Лексса и Ларса определены три генотипа AA, AB и BB гена LIF, частота которых составила 20,9; 54,6; 24,5%, соответственно. В линиях свиней 2010 года рождения наибольшую частоту имел аллель B (0,61; 0,56 и 0,61, соответственно), но уже у свиней 2010 года рождения было отмечено повышение частоты аллеля A.

2. У свиней крупной белой породы и породы дюрок определены три генотипа гена LIF AA, AB и BB. Частота аллеля A гена LIF у свиней крупной белой породы и дюрок составила 0,65 и 0,24, соответственно. Частота генотипов AA, AB и BB в крупной белой породе – 36,3; 57,8; 5,9 %, в породе дюрок – 8,8; 30,5; 60,7 %, соответственно.

3. Установлено влияние генотипов гена LIF на воспроизводительные показатели свиней. В качестве желательного определен генотип AA/LIF, наличие которого относительно аналогов генотипа BB у свиноматок связано с большим количеством поросят при рождении и многоплодием в линиях Лорда на 1,59 (12,3%) и 1,12 гол. (9,0%); Лексса на 1,4 (11,1%) и 1,3 гол. (11,5%); Ларса на 2,0 (15,6%) и 1,7 гол. (14,8%).

4. Влияние генотипов гена LIF на откормочные и мясные качества свиней породы ландрас установлено не было. Различия были обнаружены только у свиней 2013 года рождения в линии Ларса, где свиньи генотипа AA/LIF имели лучшие показатели по всем анализируемым признакам и превосходили аналогов генотипа BB по скороспелости на 13 дн. (7,8%), среднесуточному приросту на 106,2 г (13,9%) и толщине шпика на 2,3 мм (18,6%).

5. По гену MC4R у свиней породы ландрас были определены три генотипа AA, AG и GG, частота которых составила 19,0; 46,6; 34,4%, соответственно. У свиней линии Лорда 2010 и 2013 года рождения и Ларса 2010 года рождения наибольшей частотой обладал аллель G (0,61, 0,60 и 0,71, соответственно). Частота аллеля A у свиней линий Лорда, Лексса, Ларса 2013 года рождения составила 0,40; 0,53 и 0,42 соответственно. Наибольшие расхождения в распределении частот аллелей и генотипов установлены в линии Ларса. У свиней линии Ларса 2013 года рождения, относительно животных 2010 года рождения, отмечено повышение частоты генотипа AA на 5,9% и снижение частоты генотипа GG на 20,4%.

6. Установлено влияние генотипов гена MC4R на продуктивные показатели свиней и определены желательные генотипы для дальнейшего закрепления.

В линии Лорда в качестве желательного установлен генотип AA/MC4R, наличие которого связано с хорошими воспроизводительными качествами свиней и лучшими показателями по скороспелости на 3,7 дн. (2,3%), среднесуточному приросту 72,6 г (8,6%), толщине шпика на 1,7 мм (13,6%), длине туловища на 3,3 см (2,7%).

В линии Лексса желательным установлен AG/MC4R, который связан с большим количеством поросят при рождении на 1,04 гол. (8,3%), многоплодием 0,98 гол. (8,8%) и массой гнезда при рождении на 2,1 кг (13,1%), скороспелостью на 4,9 дн. (3%), среднесуточным приростом на 68,5 г (8,4%) и меньшей толщиной шпика на 0,23 мм (1,8%).

В линии Ларса желательным установлен генотип AG/MC4R, который связан с большим количеством поросят при рождении на 2,0 гол. (15,3%), многоплодием на 2,6 гол. (23,5%), массой гнезда при рождении на 3,4 кг (21,6%), скороспелостью на 5,7 дн. (3,4 %).

8. В результате генотипирования свиней породы ландрас по гену PRLR обнаружено наличие трех генотипов AA, AB и BB с частотой 47,7; 41,4; 10,9%,

соответственно. Наибольшей частотой во всех исследуемых группах обладал аллель A/PRLR.

9. В качестве желательного при селекции по воспроизводительным качествам установлен генотип AA/PRLR, наличие которого связано:

- с большим количеством поросят при рождении в линии Лорда на 2,3 гол. (18,2%) и Лексса на 1,4 гол. (11,5%);

- многоплодием в линии Лорда на 1,7 гол. (14,3%), Лексса на 1,3 гол. (10,8%) и Ларса на 1,3 гол. (10,9%);

- массой гнезда при рождении в линии Лорда на 3,5 кг (21,7%).

Достоверного влияния генотипов на откормочные и мясные качества свиней установлено не было.

11. Дополнительная прибыль от получения и использования племенного поголовья свиноматок с желательным генотипом по гену LIF из расчета на одну свиноматку составила 4 548,72 руб.

### **Предложения производству**

1. В селекции на улучшение воспроизводительных качеств рекомендуется использовать ДНК-диагностику свиней по генам LIF, MC4R, PRLR в качестве дополнительного критерия отбора и подбора животных.

2. Для повышения откормочных и мясных качеств рекомендуется использовать ДНК-диагностику свиней по гену MC4R в качестве дополнительного критерия отбора и подбора животных.

3. Закрепить желательные генотипы AA/LIF и AA/PRLR у свиноматок породы ландрас. Использовать генотипирование по данным генам в качестве дополнительного критерия при отборе хряков.

4. Консолидировать у свиноматок линии Лорда генотип AA/MC4R для повышения воспроизводительных качеств и передачи потомству желательного аллеля А.

5. Создавать специализированные линии свиней для получения племенных животных с гомозиготными генотипами AA и GG по гену MC4R (для гарантированного наследования желательного аллеля).

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Дальнейшая работа в области селекции свиней по генам-маркерам будет направлена:

- на разработку, совершенствование и расширение методов генотипирования свиней;
- поиск информативных ДНК-маркеров, которые могут стать мощным орудием для создания новых отечественных высокопродуктивных конкурентоспособных пород и линий свиней.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азарин, К.В. ДНК маркеры в селекции растений: учеб. пособие по молекулярной генетике/ К.В. Азарин, Н. В. Маркин, В.С. Лотник, А. В. Усатов.// Ростов н/Д: Изд-во ЮФУ, 2012. С. 26-40
2. Багиров, В.А. Биотехнологические аспекты сохранения генетических ресурсов животных: Автореф. дис... докт. биол. наук/ В.А. Багиров. – Дубровицы, 2005.- 42 с.
3. Банникова, А.Д. Полиморфизм ДНК-маркеров, ассоциированных с воспроизводительными качествами, у свиней пород крупная белая и йоркшир. Автореф. дис... канд. биол. наук/ А.Д. Банникова. – Дубровицы, 2012
4. Бараников, А.И. Технология интенсивного животноводства/ Учебник. А.И. Бараников, В.Н. Приступа, Ю.А. Колосов, Н.В. Михайлов, О.Л. Третьякова // – Ростов-на-Дону, Феникс, 2008. –602 с.
5. Бараников, А.И. Перспективы развития свиноводства в мире и в России/ А.И. Бараников, Н.В. Михайлов, О.Л. Третьякова // В сборнике: Актуальные проблемы производства свинины в Российской Федерации материалы XXIII заседания межвузовского координационного совета по свиноводству и международной научно-практической конференции. пос. Персиановский, 2013. С. 4-14.
6. Белоногова, Н.М. «Прямая» и «обратная» генетика. Генетика количественных признаков // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014, Том 18, № 1, С. 147-157.
7. Берг, Р.Т., Мясной скот: концепции роста/ Р.Т. Берг, Р.М. Баттерфилд // Пер. с англ. и предисл. Д.В.Карликова.- М.: Колос, 1979.- С. 280.
8. Богданов, Е.А. Как можно ускорить совершенствование и создание племенных стад и пород (разведение по линиям) // Соч. – 3-е изд. – М.: Сельхозгиз, 1938. – С. 231.

9. Богданов, Е.А. Разведение крупных йоркширов. – М.:МОЗО, 1922. – с.30.
10. Василенко, В.Н. Дифференцированная селекция и гибридизация в свиноводстве // Зоотехния. – 2003. – №5. – С. 9-11.
11. Василенко, В.Н., Информационные технологии в племенном свиноводстве/ В.Н. Василенко, Н.В. Михайлов, А.А. Белик – ДГАУ.- п. Персиановский., 2003. – с.86.
12. Василенко, В.Н. Проблема импортозамещения будет решена // Вестник агропромышленного комплекса №1 2014, С. 96-97
13. Воробьева, Л.И. Генетические основы селекции растений и животных/ Л.И. Воробьева, О.В. Таглина – Х.: Изд-во Калорит, 2006. – с. 224
14. Гетманцева, Л.В. Молекулярно-генетические аспекты селекции животных // Молодой ученый. 2010. № 12-2. С. 199-201.
15. Гетманцева, Л.В. Влияние полиморфизма генов MC4R, IGF2 и ROU1F1 на продуктивные качества свиней/ Дис. на соиск. учен. степ. канд.а с.-х. наук // Л.В. Гетманцева - п. Персиановский, 2012, С. 12-35
16. Гетманцева, Л.В. Использование ДНК-маркеров в селекции свиней/ Л.В. Гетманцева, Е.А. Карпенко, Д.В. Чикотин // Перспективное свиноводство. - 2012. - № 1.- С.20–21.
17. 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.
18. Гетманцева, Л.В. Молекулярная диагностика в свиноводстве/ Л.В. Гетманцева, Н.В. Михайлов // В сборнике: Актуальные проблемы производства свинины в Российской Федерации материалы XXIII заседания межвузовского координационного совета по свиноводству и международной научно-практической конференции, пос. Персиановский, 2013. С. 64-67.

19. Гетманцева, Л.В., Взаимосвязь полиморфизма гена FSHb с продуктивными качествами свиней/ Л.В. Гетманцева, Н.В. Михайлов, Н.А. Святогор // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 6 – С. 107-108.

20. 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

21. Гетманцева, Л.В. Применение молекулярно-генетических методов в свиноводстве/ Л.В. Гетманцева, Н.В. Карагодина // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. 2014. Т. 3. № 7. С. 494-497.

22. Гетманцева, Л.В. Влияние полиморфизма гена IGF-2 на откормочные и мясные качества свиней/ Л.В. Гетманцева, О.Л. Третьякова, А.В. Радюк // Сборник научных трудов Северо-Кавказского научно-исследовательского института животноводства. 2014. Т. 1. № 3. С. 22-26.

23. 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. 16-26.

24. Глазко, В.И. ISSR-PCR маркеры и мобильные генетические элементы в геномах сельскохозяйственных видов млекопитающих/ В.И. Глазко, Е.А. Гладырь, А.В. Феофилов, Н.В. Бардуков, Т.Т. Глазко // Сельскохозяйственная биология – 2013. - №2. – С. 71-76;

25. Глазко, В.И. Молекулярно-генетические маркеры полиморфизма ДНК и их геномное позиционирование/ В.И. Глазко, И.Л. Цветков, Л.Ф. Созинова, Т.Т. Глазко // Докл. РАСХН. – 2009. – № 3. – С. 11-14.

26. Давидсон, Х.Р. Свиноводство. – М.: Иностранная литература, 1956. – 349 с.

27. Дарвин, Ч. Изменение животных и растений в одомашненном состоянии // Сельхозгиз., М., 1939.
28. Дмитриев, В.Б. Соответствие критериев оценки племенных качеств животных, методов их отбора и подбора качественному прогрессу популяции // 2 Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, Санкт-Петербург., 1-5 февр., 2000: Тезисы докладов. Т 2. –СПБ, 2000. – С. 35-36.
29. Дмитриев, Н.Г. Разведение сельскохозяйственных животных с основами частной зоотехнии и промышленного животноводства/ Н.Г. Дмитриев, А.И. Жигачев, А.В. Вилль, И.В. Кимель, Е.Ф. Чемисова, А.И. Нетеса. – Л.: Агропромиздат. Ленинградское отделение, 1989. –511 с.
30. Епишко, Т.И. Интенсификация селекционных процессов в свиноводстве с использованием классических методов генетики и ДНК-технологии: автореф. ... дис. д-ра с.-х. наук: 06.02.01/ Т.И. Епишко; РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству». – Жодино, 2008. –44 с.
31. Жебровский, Л.С. Селекционная работа в условиях интенсификации животноводства. – Л.: ВО Агропромиздат, 1987. –246 с..
32. Завадовский, Н.Н. По вопросу о племенном свиноводстве в связи с начинающимся экспортом бекона в Англию // Жизнь и знание. – 1926. – С. 21.
33. Зиновьева, Н.А. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных/ Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь, Л.К. Эрнст, Г. Брем // ВИЖ.- 2002.- 128 С.
34. Зиновьева, Н. Методы маркер-зависимой селекции/ Е. Гладырь, Г. Державина, Е. Кунаева // Животноводство России.- 2006.- №3.- С. 29-31.
35. Зиновьева, Н.А. Молекулярно-генетические методы и их использование в свиноводстве // Достижение науки и техники АПК, N10-2008 С. 34-36.

36. Зиновьева, Н.А. Некоторые аспекты использования микросателлитов в свиноводстве/ Н.А. Зиновьева, Е.И. Сизарева, Е.А. Гладырь, Н.В. Проскурина, К.М. Шавырина // Достижения науки и техники АПК. – 2010. – № 8. – С. 38-41.
37. Зиновьева, Н.А. Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных/ Н.А. Зиновьева, О.В. Костюнина, Е.А. Гладырь, А.Д. Банникова, В.Р. Харзинова, П.В. Ларионова, К.М. Шавырина, Л.К. Эрнст // Зоотехния. – 2010. – № 1. – С. 8-10.
38. Зиновьева, Н.А. Современные генетические методы в селекции свиней/ Н.А. Зиновьева, А.В. Доцев, А.В. Шахин, К.М. Шавырина, В.Н. Маурчева, Ю.И. Чинаров // Под редакцией Н. А. Зиновьевой. Дубровицы, 2011.
39. Зиновьева, Н. А. Полиморфизм генов, ассоциированных с локусами количественных признаков, у кабана (*Sus Scrofa* L., 1758), обитающего на территории России/ Н. А. Зиновьева, О. В. Костюнина, А. В. Экономов, М. С. Шевнина, И. А. Домский, Е. А. Гладырь, Г. Брем // Сельскохозяйственная биология, 2013. № 2. С. 77-82.
40. Иванов, М.Ф. Полное собрание сочинений в 7 т. – М.: Колос, 1963-1965.
41. Иогансон, И. Методы разведения и селекции/ И. Иогансон, Д. Лаш // Руководство по разведению животных. – М., 1963. – Т.2. – С. 285
42. Иогансон, И. Генетика и разведение домашних животных/ И. Иогансон, Я. Рендель, О. Граверт // Под ред. З.С. Никоро. – М.:Колос, 1970. – С. 343
43. Кабанов, В.Д. Интенсивное производство свинины – М., 2003.– С.24-315.
44. Кабанов, В.Д. Эффективный способ повышения мясной продуктивности свиней / В.Д. Кабанов //Зоотехния .-2010.-№1.-С.22-24.
45. Каграманов, А.Р. Продуктивные качества свиней пород дюрок и скороспелая мясная степного типа разных генотипов по локусам ESR и H-FABP // Автореф. дис...канд. биол. наук/ А.Р. Каграманов – Ставрополь, 2011.- 25 с.

46. Колосов, А.Ю. Использование селекционных индексов и информационных технологий для интенсификации племенного отбора в свиноводстве // Дис... канд. с.-х. наук/ А.Ю. Колосов – п. Персиановский, 2010. – 19 с.

47. Колосов, А.Ю. Перспективы использования информационных технологий для ускорения генетического прогресса в племенном животноводстве/ А.Ю. Колосов, О.Л. Третьякова, Л.В. Гетманцева // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2014. № 3. С. 78-81.

48. Колосов, Ю.А. Создание информационно-аналитической системы в Ростовской области / Ю.А. Колосов, О.Л. Третьякова // Сборник научных трудов Северо-Кавказского научно-исследовательского института животноводства. 2014. Т. 2. № 3. С. 104-110.

49. Комлацкий, Г.В. Индустриализация и интенсификация отрасли свиноводства на Юге России: Дис... д-ра с.-х. наук/ Г.В. Комлацкий – г. Черкесск – 2014.– С. 23-28

50. Костюнина, О.В. Селекция на основе ДНК-технологий/ О.В. Костюнина, Н.А. Зиновьева, А.Н. Левитченков, А.В. Гоголев // Животноводство России.- 2008.- №4.-С. 39-42.

51. Костюнина, О.В. Влияние комплексного генотипа по ДНК-маркерам на воспроизводительные качества свиней крупной белой породы/ О.В. Костюнина, А.Д. Банникова, Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь // Проблемы биологии продуктивных животных. 2011. № 1. С. 38-41.

52. Костюнина, О.В. Полиморфизм гена рецептора меланокортина MC4R и его влияние на мясные и откормочные качества свиней/ О.В. Костюнина, Н.А. Зиновьева, Е.И. Сизарева, А.И. Калугина, Е.А. Гладырь, Л.В. Гетманцева, М.С. Форнара, В.Р. Харзинова // Достижения науки и техники АПК. 2012. № 8. С. 49-51.

53. Кисловский, Д.А. Разведение с.-х. животных. – М.: Селихозгиз, 1951.– С.15-29

54. Клименко, А.И., Костылев Э.В., Карманукян С.Х. Количество потомков, необходимое для достоверной оценки хряков и свиноматок/ А.И. Клименко, Э.В. Костылев, С.Х. Карманукян // Вестник ветеринарии, 2003, №1. – С. 55-57.
55. Красота, В.Ф. Разведение с.-х. животных/ В.Ф. Красота, В.Н. Лобанов, Т.Г. Джапаридзе – М.: Агропромиздат, 1990. –461 с.
56. Крюков, В.И. Генетические основы селекции. Учебное пособие для вузов. Изд. 2-е., доп., исп. – Орёл: Изд-во ОрёлГАУ, 2012. –87 с.
57. Кулешов, П.Н. Избранные работы. – М.: Сельхозиздат, 1949. –215 с.
58. Кулешов, П.Н. Теоретические работы по племенному животноводству. – М.: Сельхозиздат, 1957. –223 с.
59. Куликов, В.М. Общая зоотехния. – 2-е изд., перераб. и доп/ В.М. Куликов, Ю.Д. Рубан – М.: Колос, 1982. –560 с.
60. Кушнер, Х.Ф. Наследственность сельскохозяйственных животных (с элементами селекции). – М.: Колос, 1964. –487 с.
61. Кунаева, Е. К. Разработка и применение аналитической системы диагностики маркерных генов плодовитости свиней: Автореф. дис. ... канд. биол. наук/ Е.К. Кунаева – п. Дубровицы, 2007
62. Левиашвили, М.М. Лейкемия-ингибирующий фактор и рецептивность эндометрия/ М.М. Левиашвили, Н.Г. Мишиева, Т.А. Назаренко, Е.А. Коган // Проблемы репродукции, 3, 2012, С. 17-21.
63. Левитченков, А.Н. Изучение полиморфизма ДНК-маркеров и их влияния на показатели мясной и откормочной продуктивности свиней различных пород и кроссов: Автореф. дис... к-та биол. наук/ А.Н. Левитченков – Дубровицы, 2009.- 18 с.
64. Леонова, М.А. Перспективные гены-маркеры продуктивности сельскохозяйственных животных/ М.А. Леонова, А.Ю. Колосов, А.В. Радюк, Е.М. Бублик, А.А. Стетьуха, А.Е. Святогорова // Молодой ученый. 2013. № 12 (59). С. 612-614.

65. Леонова, М.А. Интенсификация селекционного процесса в животноводстве с использованием метода ПЦР/ М.А. Леонова, А.Ю. Колосов, А.Е. Святогорова, А.В. Радюк // Молодой ученый. 2014. № 11. С. 172-175.

66. Леонова, М.А. Воспроизводительные качества свиней породы ландрас разных генотипов по генам PRLR и MC4R/ М.А. Леонова, А.Е. Святогорова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2014. – №09(103). – IDA [articleID]: 1031409065. <http://ej.kubagro.ru/2014/09/pdf/65.pdf>

67. Леонова, М.А. Распределение частот аллелей и генотипов гена лейкемия ингибирующего фактора у свиней различных пород/ М.А. Леонова, Л.В. Гетманцева, А.Ю. Колосов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2. ISSN 2070-7428, URL: [www.science-education.ru/122-17343](http://www.science-education.ru/122-17343).

68. Лесли, Д.Ф. Генетические основы селекции с.-х. животных // [Перевод с английского и предисловие Д.В. Карликова]. – М.: Колос, 1982. –391 с.

69. Лискун, Е.Ф. Избранные труды // М.: Сельхозгиз, 1961. –534 с.

70. Лобан, Н.А., Костюнина О.В., Василюк О.Я. Полиформизм гена IGF-2 у свиней мясных пород в республике Беларусь и его влияние на откормочные и мясные качества/ Н.А. Лобан, О.В. Костюнина, О.Я. Василюк // Сельскохозяйственная биология.- 2009.- №2.- С.27-29.

71. Лобан, Н.А. Эффективность использования методов молекулярной генной диагностики в отечественном свиноводстве/ Н.А. Лобан, А.С. Чернов // Фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Междунар. науч. конф., 3–6 дек. 2008 г., — Минск: Изд. центр БГУ, 2008. С. 194-197

72. Лобан, Н.А. Комплексная система селекции свиней белорусской крупной белой породы // «Вестник НГАУ» – 1(17)/2011. С.64-70.

73. Лядский, И.К. Связь Asp298Asn полиморфизма гена MC4R с толщиной спинного сала у свиней/ И.К. Лядский, А.А. Гетя, К.Ф. Почерняев // Цитология и генетика, ISSN 0564–3783, 2011 - №2, С. 52-56

74. Максимов, Г.В. Сборник задач по генетике/ Г.В. Максимов, В.Н. Василенко, О.И. Кононенко и др. // – М.: Вузовская книга.- 2010.- 144 с.
75. Максимов, Г.В. Новое в селекции свиней // Матер. Междун. науч.-практ. конф. 1-4 февраля 2005. – пос. Персиановский, 2005. – С. 81-83.
76. Максимов, Г.В. SNPs маркеры в селекции животных/ Г.В. Максимов, Л.В. Гетманцева // В сборнике: Проблемы и тенденции инновационного развития агропромышленного комплекса и аграрного образования России Материалы Международной научно-практической конференции: В 4-х томах. пос. Персиановский, 2012. С. 176-178.
77. Максимов, Г.В. Влияние гена MC4R на мясную продуктивность свиней/ Г.В. Максимов, Л.В. Гетманцева // Главный зоотехник. 2011. № 10. С. 9-12.
78. Малигонов, А.А. К вопросу о принципах селекции животных // Хозяйство. – Киев, 1913. – С.30.
79. Маркин, Н. В. Методы амплификации нуклеиновых кислот: учеб. пособие по молекулярной генетике / Н. В. Маркин, А. В. Усатов. – Ростов н/Д: Изд-во ЮФУ, 2010. С. 25-30.
80. Межевкина, Л. М. Роль лейкемия ингибирующего фактора в процессах роста и дифференцировки эмбриональных стволовых клеток и в раннем эмбриогенезе // Автореф. дис... доктора биолог. Наук/ Л.М. Межевкина – Пушино, 2011.
81. Меркурьева, Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве // – М.: Колос, 1977. – С. 204-223.
82. Меркурьева, Е.К. Генетика с основами биометрии/ Е.К. Меркурьева, Г.Н. Шангин-Березовский // – М.: Колос, 1983. –400 с.
83. Михайлов, Н.В. Селекционно-генетические аспекты оценки наследственных качеств животных/ Н.В. Михайлов, В.Д. Кабанов, Г.А. Каратунов // – Новочеркасск, 1996. –63 с.

84. Михайлов, Н.В. Воспроизводство свиней (технология и селекция)/ Н.В. Михайлов, А.И. Клименко, О.Л. Третьякова, В.К. Яковенко // – Персиановский, 2000. –130 с.
85. Михайлов, Н.В. СИФ. Селекционно-информационный фильтр. Автоматизированная информационная система управления селекционным процессом в животноводстве/ Н.В. Михайлов, О.Л. Третьякова, А.И. Рудь // – Новочеркасск, - 2004. - №4. –19 с.
86. Михайлов, Н.В. Динамика воспроизводительного фитнеса свиней/ Н.В. Михайлов, О.Л. Третьякова // Матер. науч.-практ. конф. – пос. Персиановский, ДонГАУ, 2006. – С. 100-102.
87. Михайлов, Н.В. Проблемы селекции и гибридизации свиней // Материалы научн.-практ. конф. – Москва, ВНИИПлем, 2007. – С. 11-14.
88. Михайлов, Н.В. Свиноводство. Технология производства свинины/ Н.В. Михайлов, А.И. Бараников., И.Ю. Свиначев // Учебник для студентов высших уч. Завед. Ростов-на-дону, ООО «Издательство «Юг», 2009. С. 5-11.
89. Михайлов, Н.В. Нужно ли завозить в Россию импортных свиней/ Н.В. Михайлов, Н.Т. Мамонтов, В.Н. Шарнин // Свиноводство. – 2010. - №1. - С. 14-16.
90. Михайлов, Н.В. Причины мертворожденности поросят/ Н.В. Михайлов, Л.В. Гетманцева// Свиноводство. 2012. № 6. 66 с.
91. Мысик, А. Состояние и перспективы развития свиноводства в России // Свиноводство. - 2001. - №1. - С.2-3.
92. Мысик, А.Т. Развитие отрасли свиноводства в странах мира // Свиноферма. - 2006. - №5. - С. 34-35.
93. Никоро, З.С., Рокитский П.Ф. Применение и способы определения коэффициента наследуемости // Генетика. – 1972. – №2. – С. 170-176.
94. Нургалиев, Ф. М. Использование ДНК - технологии для оценки воспроизводительных качеств свиней // Автореф. дис...канд. биол. наук/ Ф.М. Нургалиев - Казань 2013. – С. 3-21

95. Павлов, Г.Л. Селекция свиней крупной белой породы методом замкнутой селекции // Совершенствование генетических ресурсов в свиноводстве. – Л., 1987. – С.23-26.

96. Поставнева, Е.В. Правильно организованная племенная работа обеспечит дальнейший успех животноводства // Главный зоотехник. - 2009. – №10. – С.8-9

97. Поляничкин, А.А. Популяционная генетика в птицеводстве. – М.: Колос, 1980. – с. 256

98. Полозюк, О.Н. Гены-маркеры, влияющие на продуктивность свиней/ О.Н. Полозюк, Г.В. Максимов, Л.В. Гетманцева, Е.М. Бублик // Свиноводство. 2014. № 4. С. 35-36.

99. Овсянников, А.И. Основы опытного дела в животноводстве // М.: Колос, 1976.- 304 с.

100. Попков, Н.А. Использование методов молекулярной генной диагностики для повышения откормочных и мясных качеств свиней белорусской крупной белой породы/ Н.А. Попков, И.П. Шейко, Н.А. Лобан, О.Я. Василюк, А.С. Чернов // Вести национальной академии наук.- 2008.- № 4.- С.70-73.

101. Святогоров, Н.А. Оптимизация племенного отбора по репродуктивным, откормочным и мясным качествам свиней // Дис...канд. с.-х. наук/ Н.А. Святогоров – п. Персиановский, 2011, С. 10-15

102. Смарагдов, М. Г. Геномная селекция молочного скота в мире. Пять лет практического использования // Генетика. - 2013. - Т. 49, № 11. - С.1251-1260. - Библиогр.: С. 1258-1260.

103. Смирнов, В.С. О соотношении искусственного и естественного отбора в селекции свиней // Вестник сельскохозяйственной науки. – 1991. - №8.- С. 113-116.

104. Смирнов, В.С. Селекция свиноматок на приспособленность к промышленной технологии // Зоотехния.- 2005 - №6. - С.25-27.

105. Солбриг, О. Популяционная биология и эволюция/ О. Солбриг, Д. Солбриг – М.: Мир, 1982. – С.448
106. Степанов, В.И. Свиноводство и технология производства свинины/ В.И. Степанов, Н.В. Михайлов. – М., 1991. –335 с.
107. Степанов, В.И. Селекция свиней на мясность и проблема качества/ В.И. Степанов, В.Х. Федоров, А.И. Тариченко, А.В. Березняков // Известия высших учебных заведений / Северо-Кавказский регион. - 1997. - №3. - С.76 - 78.
108. Степанов, В.И. Свиноводство и технология производства свинины/ В.И. Степанов, Н.В. Михайлов. – М.: Агропромиздат, 1991. –141 с.
109. Столповский, Ю.А. Генофонды домашних животных Монголии/ Ю.А. Столповский, Ц. Цэндсүрэн, Н.В. Кол, В.Н. Воронкова, Г.Е. Сулимова - М., 2013, 274 с.
110. Сулимова, Г. И., ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения // Успехи современной биологии. – 2004. – Т. 124. – №3. – С.260-271.
111. Сулимова, Г. Анализ полиморфизма ДНК с использованием метода полимеразной цепной реакции/ Г.Е. Сулимова, И. Удина, В. Зинченко — Макс-Пресс Москва, 2006. —78 с.
112. Толоконцев, А.И. Совершенствование пород свиней йоркшир, ландрас, дюрок, канадской селекции и их использование в региональной системе гибридизации. Автореф. дис...доктора с.-х. наук/ А.И. Толоконцев – Саранск, 2012, С. 2-10.
113. Третьякова, О.Л. Изменчивость признаков воспроизводительного фитнеса в популяциях свиней заводов России/ О.Л. Третьякова, Г.И. Федин // Матер. Междун. науч.-практ. конф. 5-8 февраля 2008. – пос. Персиановский, 2008. – С. 175-180.
114. Третьякова, О.Л. Эффективность оценки генотипа свиней при использовании данных о предках/ О.Л. Третьякова, Э.В. Костылев, Л.В. Гетманцева, Н.В. Широкова // Политематический сетевой электронный научный

журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2014. № 100. С. 805-818.

115. Третьякова, О.Л. Создание генотипической конструкции линии на основе индексной оценки свиней В сборнике: Современные технологии сельскохозяйственного производства и приоритетные направления развития аграрной науки/ О.Л. Третьякова, Л.В. Гетманцева, А.Е. Святогорова, И.Ю. Свинарёв // Материалы международной научно-практической конференции: в 4-х томах. 2014. С. 226-230.

116. Усатов, А.В. Влияние гена MC4R на репродуктивные качества свиней крупной белой породы/ А.В. Усатов, Л.В. Гетманцева, М.А. Леонова // Генетика и селекция на Дону. Ростов н/Д: ЮФУ. 2014. Вып. 4. С. 243-252

117. Фишер, Р.А. Статистические методы для исследований. – М.: Госстатиздат, 1958. –288 с.

118. Фолконер, Д.С. Введение в генетику количественных признаков. – М.: Агропромиздат, 1985. –455 с.

119. Фридин, Х.Т. Факторы генетического улучшения// Современные проблемы свиноводства. – М., 1977. – С.7-21.

120. Хэммонд, Д. Биологические проблемы животноводства. – М.: Колос, 1964. –316 с.

121. Шейко, И. Проблемы и перспективы селекционной работы в промышленном свиноводстве/ И. Шейко, А. Хоченков., Д. Ходосовский // Свиноводство. - №3. - 2004. –С.4-6.

122. Шейко, И.П. Популяционный анализ полиморфизма гена RYR-1 пород свиней Беларуси различного направления продуктивности / И.П. Шейко, Т.И. Епишко, О.П. Курак // Доклады РАСНХ. 2006.- №1. - С. 36-38.

123. Шейко, И.П. Задачи селекционно-племенной работы по повышению генетического потенциала сельскохозяйственных животных / И.П. Шейко, Н.А. Попков // Белорусское сельское хозяйство. – 2008. – № 1. – С. 38–44.

124. Широкова, Н.В. Оценка влияния гена MC4R на откормочные и мясные качества свиней породы ландрас/ Н.В. Широкова, А.В. Радюк, Р.Г. Алиев, Т.Ю. Тарусова, Н.Ф. Бакоев // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 5. 593 с.
125. Шмальгаузен, И.И. Пути и закономерности эволюционного процесса. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1939. 231 с. (2-е изд.: М.: Наука, 1983. 360 с.).
126. Шмальгаузен, И.И. Факторы эволюции. – М.: Наука, 1968. –451 с.
127. Щербатов, В. И. Методы комплексной оценки и ранней диагностики продуктивности сельскохозяйственных животных: учебник // В. И. Щербатов, И. Н. Тузов, А. Г. Дикарев, Л. В. Музыкантова – Краснодар: КубГАУ, 2014. –292 с.
128. Эрнст, Л.К. Племенное дело в животноводстве/ Л.К. Эрнст, Н.А. Кравченко, А.П. Солдатов, В.А. Коваленко, Д.Т. Винничук, Е.А. Найденко. – М.: Агропромиздат, 1987. –287 с.
129. Эрнст, Л.К. Биологические проблемы животноводства в XXI веке// Л.К. Эрнст, Н.А. Зиновьева - М.: РАСХН, 2008, 501 с.
130. Averdunk, G. Erfahrungen und Ergebnisse in der index selection beim Sohwein unter Feldbedngungen // Europäische Vereinigung fur Tierzucht. – 1977. – P. 1-5.
131. Alonso, V., Santana, B., Pirage, W., et al., Effect of prolactin receptor gene on the quantitative characteristics of economic interest on pigs, Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., 2003, vol. 40, pp. 366–372.
132. Barreras Serrano, A., Herrera Haro J.G., Hori-Oshima S. Prolactin Receptor (PRLR) Gen Polymorphism and Associations with Reproductive Traits in Pigs. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8: 469-475. 2009
133. Bartz, M., Kociucka B., Mankowska M., Switonski M., Szydlowski M: Transcript level of the porcine ME1 gene is affected by SNP in its 3'UTR, which is also associated with subcutaneous fat thickness. Journal of Animal Breeding and Genetics (accepted), 2013

134. Botstein, D., White R.L., Skolnick M., Davis R.V. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // *Amer.J. Hum. Genet.* – 1980.- V.32.- P.314.
135. Boutin, J.M., Jolicoeur C., Okamura H., Gagnon J., Edery M. – Cloning and expression of the rat prolactin receptor, a member of the growth hormone/prolactin receptor gene family. *Cell* 53,69-77. 1988
136. Brookes, A.J. The essence of SNPs // *Gene.*- 1999.- Vol.234.- N.2.- P.177.
137. Bruun, C.S., Jørgensen C.B., Nielsen V.H., Andersson L., Fredholm M. Evaluation of the porcine melanocortin 4 receptor (MC4R) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire // *Animal Genetics.* – 2006. – 37(4). – 359-362.
138. Chen, K., Baxter T, Muir W, Groenen M, Schook L. Genetic resources, genome mapping and evolutionary genomics of the pig (*Sus scrofa*) // *Int J. Biol Sci.*- 2007.- N.3.- P.153-165.
139. Chmurzyńska, A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism / A. Chmurzyńska // *J Appl Genet.* — 2006. — Vol. 47, N 1. — P. 39—48.
140. Civaňová, K., Knoll A. Introducing of snapshot method for polymorphism detection zavedení snapshot metodiky pro detekci polymorfismů. Příspěvek vznikl za podpory grantového projektu FRVŠ MŠMT ČR č. 170/2004
141. Cooke, N.E. and Baxter J.D., Structural analysis of the prolactin gene suggests a separate origin for its 5' end, *Nature*, 1982, vol. 297, pp. 603–606.
142. Dvořáková, V., Stupka R., Šprysl M., Čítek J. and Okrouhlá M. et al. 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, 2011.
143. Distl, O., Drogemüller C., Hamann H. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *Journal of Animal Science* 79, 2565-2570, 2001.
144. Do, C.H., Cho, B.W., and Lee, D.H., Study on the prolactin receptor 3 (PRLR3) gene and the retinolbinding protein 4 (RBP4) gene as candidate genes for

production traits in Berkshire pigs, *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2012, vol. 25, no. 2, pp. 183–188.

145. 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.

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

147. Fisher, R. A. *The Genetical Theory of Natural Selection* //Oxford University Press, 1930.

148. Falconer, D. S. and Mackay, T. F. C. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman, Harlow, Essex, U.K.

149. Ghaly, S.M.A. and Al-Sowayan S.S., 2014. A high b1 field homogeneity generation using free element elliptical four-coil system. *Am. J. Applied Sci.*, 11: 534-540. DOI: 10.3844/ajassp.2014.534.540

150. Harris, D.L. Expected and predicted progress fran index selection involving estimates of population parpmeters // *biomrtrics*. Blackburg, 1960. - №20. – P.46-72.

151. Hazel, L.N., Lush I.L. *The Efficiency of Three Methods of selection.* – *IH*, 33: 393, 1942.

152. Herrmann, M.G.; Durtschi, J.D.; Wittwer, C.T. and Voelkerding, K.V. Expanded instrument comparison of amplicon DNA melting analysis for mutation scanning and genotyping. *Clin Chem.* 2007; 53:1544–1548.

153. Houston, R.D., Cameron N.D. and Rance K.A., 2004. A Melanocortin-4 Receptor (MC4R) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected large white pig populations. *Anim. Genet.*, 35: 386-390. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2004.01182.x

154. Hongyu, L., W. Tian, L. Zan, H. Wang and H. Cui, 2010. Mutations of MC4R gene and its association with economic traits in Qinchuan cattle. *Mol. Biol. Rep.*, 37: 535-540. DOI: 10.1007/s11033-009-9706-0

155. Hernandez-Sanchez, J., Visscher P., Plastow G., Haley C. Candidate gene analysis for quantitative traits using the transmission disequilibrium test: the example of the melanocortin 4-receptor in pigs // *Genetics*. – 2003. – 164. – 637–44.

156. Houston, R.D., Cameron N.D., Rance K.A. A melanocortin- 4 receptor (MC4R) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected large white pig populations // *Animal Genetics*, 2004, 35: 386–390.

157. Huang, Y.T. and M.S. Wang, 2013. The influence of the integrated model of social stratification structure on the public participating non-profit organizations. *J. Soc. Sci.*, 9: 151-158. DOI: 10.3844/jssp.2013.151.158

158. Irvin, K. Three effective ways to improve reproductive performance in swine// *Animal Sc. Series*. – 1982. – №1. – P.26-29.

159. Jankowiak, H., Sielska N., Kapelański W., Bocian M. The effect of h-FABP gene polymorphism on carcass and meat quality in the polish native złotnicka spotted pig . *J. of Central European Agriculture* Vol 11 (2010) No 4 459-464

160. Jokubka, R., Maak S., Kerziene S., Swalve H.H. Association of a melanocortin 4 receptor (MC4R) polymorphism with performance traits in Lithuanian White pigs // *Journal of Animal Breeding and Genetics*. – 2006. – 123. – 12-22.

161. Jung, Y.C., Rothschild, M.F., Flanagan, M.P., Christian, L.L. and Warner, C.M. (1989) Association of restriction fragment length polymorphisms of swine leucocyte class I genes with production traits of Duroc and Hampshire boars. *Anim. Genet.* 20:79-91.

162. Kamiński, S. Simultaneous identification of ryanodine receptor 1 (RYR1) and estrogen receptor (ESR) genotypes with the multiplex PCR-RFLP method in Polish Large White and Polish Landrace pigs // S. Kamiński, A. Rusc, K. Wojtasik // *J. Appl. Genet.* – 2002. – Vol. 43 (3). – P. 331–335.

163. 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.

164. Kernerova, N., Matousek, V., Cermakova, A., and Forbelska, M., Role of genetic markers in the prediction of classification of Czech large white gilts to a hyperprolific line, *Arch. Tierzucht*, 2009, vol. 52, no. 1, pp. 40–50.

165. Kim, J.M., Choi B.D., Kim B.C., Park S.S., Hong K.C. (2009): Associations of the variation in the porcine myogenin gene with muscle fibre characteristics, lean meat production and meat quality traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 126, 134–141.

166. Kim, K.S., Larsen N.J., Rothschild M.F. Rapid communication: linkage and physical mapping of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene // *Journal of Animal Science*. – 2000. – 78. – 791–792.

167. Kim, K.S., Lee J.J., Shin H.Y., Choi B.H., Lee C.K., Kim J.J., Cho B.W., Kim T.-H. Association of melanocortin 4 receptor (MC4R) and high mobility group AT-hook 1 (HMGA1) polymorphisms with pig growth and fat deposition traits // *Animal Genetics*. – 2006. – 37 (4). – 419-421.

168. Kim, K.S., Reecy J.M., Hsu W.H., Anderson L.L., Rothschild M.F. Functional and phylogenetic analyses of a melanocortin- 4 receptor mutation in domestic pigs // *Domestic Animal Endocrinology*. – 2004. – 26. – 75–86.

169. 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.

170. Kmiec, M., Arkadiusz Terman Polymorphism in the PRLR/AluI gene and its effect on litter size in Large White sows *Animal Science Papers and Reports* vol. 22 (2004) no. 4, 523-527

171. Koch, R.M. et. al. Selection in beef cattle. I. Selection Applied and Generation Interval // *IAS*, 1974. - №39. - P449.

172. Králícková, M, Ulcová-Gallová Z, Síma R, Vanecek T, Síma P, Krizan J, Suchá R, Uher P, Hes O, Novotný Z, Rokyta Z, Vetvicka V. Association of the

leukemia inhibitory factor gene mutation and the antiphospholipid antibodies in the peripheral blood of infertile women. *Folia Microbiol (Praha)*. 2007; 52(5):543-8.

173. Králíčková, M., Šíma, R. Vaněček, Šíma, P., Rokyta, Z. Leukemia inhibitory factor gene mutations in the population of infertile women are not restricted to pulligravid patient. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 127.231-235., 2006.

174. Kurył, J., Kapelański W., Pierzchała M., Bocian M., Grajewska S. A relationship between genotypes at the GH and LEP loci and carcass meat and fat deposition in pigs // *Anim. Sci. Pap. Rep.*- 2003.- N.21.- P.15–20.

175. Lai, E. Application of SNP technologies in medicine: lessons learned and future challenges // *Genome Res.*- 2001.- Vol.11.- N.6.- P.927.

176. Li, C.L. Polymorphism of the H-FABP, MC4R and ADD1 genes in the Meishan and four other pig population in China / C.L. Li, Y.C. Pan, H. Meng // *South African Journal of Animal Science*. – 2006. – Vol. 36. – № 1. – P. 1–6.

177. Linville, R.C. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine / R.C. Linville, D. Pomp, R.K. Johnson, M.F. Rothschild // *J. Anim. Sci.* – 2001. – Vol. 79. – P. 60–67.

178. Litt, M., Luty J.A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene // *Am. J. Hum. Genet.*- 1989.- Vol.44.- N.3.- P.397.

179. Liu, Qing-Yu, Yu Yong-Sheng, Jin Xin, et al., Association analysis on polymorphisms of prolactin receptor (PRLR) gene exon 10 with reproductive traits in songliao black pig and landrace pig, *J. Chin. Anim. Husb. Vet. Med.*, 2012, vol. 39, no. 10, pp. 191–195.

180. Louveau, I., Gondret F. Regulation of development and metabolism of adipose tissue by growth hormone and the insulin-like growth factor system // *Domest. Anim. Endocrinol.*- 2004.- N.27.- P. 241–255

181. Mankowska, M., Szydłowski M., Salamon S., Bartz M., Switonski M. Novel polymorphisms in porcine 3'UTR of the leptin gene, including a rare variant

within target sequence for miR-9 gene in Duroc breed, not associated with production traits. *Animal Biotechnology* 26:156-163. DOI: 10.1080/10495398.2014.958612. 2015

182. Metkalf, D. // *Int. J. Cell. Clon.* – 1991. – Vol. 9, № 2. – P. 95–108

183. Mikołajczyk, M. No correlation between pinopode formation and LIF and MMP2 expression in endometrium during implantation window./ M. Mikołajczyk J. Skrzypczak J, Wirstlein P. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011;49(4):615-21.

184. Mikhailov, N.V., Getmantseva L.V., Usatov A.V., BakoevS.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

185. Mitchell, G. et. al. An economic appraisal of pig improvement in Great Britain. 1. Genetic and production aspects. 2. Factors affecting estimated benefist // *Anim. Product.*, 1982. – V.35. - №2. – P.215-232.

186. Mucha, A., Effect of EGF, AREG and LIF genes polymorphisms on reproductive traits in pigs/ A.Mucha, K. Ropka-Molik, , K. Piyrkowska, M.Tyra, M. Oczkowicz// *Anim. Reprod. Sci.* 137, 88-92. 2013

187. Nanuwong, N. and Bodhisuwan W., Length biased beta-pareto distribution and its structural properties with application. *J. Math. Stat.*, 10: 49-57. DOI: 10.3844/jmssp.2014.49.57, 2014

188. Napierała, D., Effect of polymorphism in the LIF gene on reproductive performance of hybrid Polish Large White and Polish Landrace/ D. Napierała, M. Kawęcka, E. Jacyno, B. Matysiak & A. Wierzchowska// *South African Journal of Animal Science* 2014, 44 (No. 1)

189. Novotný, Z, Krízan J, Síma R, Síma P et.al Leukaemia inhibitory factor (LIF) gene mutations in women diagnosed with unexplained infertility and endometriosis have a negative impact on the IVF outcome. A pilot study.. *Folia Biol (Praha)*. 2009; 55(3): 92-7.

190. Nowacka-Woszek, J, Skorczyk A, Flisikowski K, Szydłowski M, Switonski M. 2012. Polymorphic variants within a putative upstream open reading

frame of the MC4R gene do not affect body weight of farmed red foxes. *Animal Genetics*, 43: 480-481.

191. Omelka, R., Martiniakova M., Peskovicova D., and Bauerova M., Associations between Alu I polymorphism in the prolactin receptor gene and reproductive traits of Slovak large white, white meaty and landrace pigs, *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2008, vol. 21, no. 4, pp. 484–488.

192. Pang, W.J., Bai L, Yang G.S. Yi Chuan Xue Bao. Relationship among H-FABP gene polymorphism, intramuscular fat content, and adipocyte lipid droplet content in main pig breeds with different genotypes in western China. *Jun*; 33 (6): 515-24, 2006.

193. Park, H.B., Carlborg O., Marklund L., Andersson L. Melanocortin-4 receptor (MC4R) genotypes have no major effect on fatness in a Large White 3 Wild Boar intercross // *Animal Genetics*. – 2002. – 33. – 155–157.

194. Pierzchała, M., Blicharski T., Kurył J., Growth rate and carcass quality in pigs as related to genotype at loci POU1F1/RsaI (PIT-1/RsaI) and GHRH/AluI. // *Anim. Sci. Pap. Rep.*- 2003b.- N.21.- P.159–166.

195. Rodriguez-Zas, S.L., Bioeconomic evaluation of sow longevity and profitability/ S.L. Rodriguez-Zas, Southey B.R., Knox R.V., Connor J.F., Lowe J.F., Roskamp B.J // *J. Anim. Sci.* 81, 2915-2922. 2006

196. Ropka-Molik, K., Variability of mRNA abundance of leukemia inhibitory factor gene (LIF) in porcine ovary, oviduct and uterus tissues/ K. Ropka-Molik, M. Oczkowicz, A. Mucha, K. Piórkowska, A. Piestrzyńska-Kajtoch // *Molecular Biology Reports* 39(8): 7965-7972, 2012

197. Ropka-Molik, K. Determination of LIF gene expression level in ovary, oviduct and uterus of pigs in different phase of oestrus cycle / K. Ropka-Molik A. Mucha, , M.Oczkowicz, K.Piyrkowska, // *Mat. Conf.*, The progress of research in pigs and its use in practice, Poland, EU, 14-17.02 140-141. 2012.

198. Rothschild, M.F. Approaches and challenges in measuring genetic diversity in pigs *Arch. Zootec.* 52: 129-135. 2003.

199. Rothschild, M. F., Kim K.S., and Emmet R.S. Miculinich. Genetic Markers for Improved Meat Characteristics in Animals (MC4R) issued on December 4, 2007. Patent No. 7,303,878

200. Schumm, J.W. Identification of more than 500 RFLPs by screening random genomic clones / J.W. Schumm, [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 1988. – Vol. 42. – № 1. – P. 143–159.

201. Smith, C., Simpson S.P. The use of genetic polymorphisms in livestock improvement // *J. Anim. Breed. Genet.*- 1986.- V.5.- №1.- P.65.

202. Snyder, M.P., Kimbrell D., Hunkapiller M. Hill R, Fristrom J, Davidson N. A transposable element that splits the promoter region inactivates a *Drosophila* cuticle protein gene // *Nucl. Acids Res.*- 1982.- V.79.- P.7430.

203. Soller, M., Beckmann J.S. Restriction fragment length polymorphisms and genetic improvement // *Poult. Sci.*- 1986.- V.65.- P.1474.

204. Spötter, A. Molecular characterization and chromosomal assignment of the porcine gene for leukemia inhibitory factor LIF/A.Spötter, C.Drögemüller, H.Hamann, O.Distl // *Cytogenet Cell Genet.* 93, 87-90. 2001.

205. Spötter, A. Analysis of Candidate Genes for the Improvement of Litter Size in Pigs Doctoral dissertation, University of Hannover, 2003.

206. Spötter, A. Evidence of a new leukemia inhibitory factor-associated genetic marker for litter size in a synthetic pig line/ A. Spötter, C. Drögemüller, H. Hamann and O. Distl // *J ANIM SCI*, 83:2264-2270, 2005

207. Spötter, A. Distl, O., Genetic approaches to the improvement of fertility traits in the pig. *J. Vet.* 172, 2, 234-247, 2006.

208. Spötter, A., Effect of polymorphisms in the genes for LIF and RBP4 on litter size in two German pig lines. *Reprod. S. Muller, H. Hamann, O. Distl, Dom. Anim.* 44, 100-105. 2009.

209. Stachowiak, M., Szydlowski M., Obarzanek-Fojt M. and Switonski M. An effect of a missense mutation in the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene

on production traits in Polish pig breeds is doubtful // *Animal Genetics*. – 2005. – 37. – 55–57.

210. Stachowiak, M., Szydlowski M., Flisikowski K., Flisikowska T., Bartz M., Schnieke A., and Switonski M. Polymorphism in 3'UTR of the pig PPARA gene influences on its transcript level and is associated with adipose tissue accumulation. *Journal of Animal Science* (accepted), 2014.

211. Stewart, C.L. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. C.L. Stewart, P.Kaspar, L. Brunet. *J. Nature* 1992; 359: 6390:76—79.

212. Stefanon, B., Floris R., Braglia S. et al. A new approach in association study of single nucleotide polymorphism of genes for carcass and meat quality traits in commercial pigs // *Ital. J. Animal Sci.*- 2004.- V.3.- P.177–189.

213. Szydlowski, M., Buszka A., Mackowski M., Lechniak D., Switonski M. Polymorphism of genes encoding cytokines IL6 and TNF is associated with pig fatness. *Livestock Science* 136: 150-156., 2011.

214. Szyndler-Nędza, M., Tyra M., Blicharski T., Piórkowska K. Effect of mutation in MC4R gene on carcass quality in Pulawska pig included in conservation breeding programmer // *Animal Science Papers and Reports. Poland*. – 2010.- V. 28.- №1.- P.37-45.

215. Tautz, D., Trick M., Dover G.A. Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation // *Nature*.- 1986.- Vol.322.- N.6080.- P.652.

216. Terman, A., Effect of the polymorphism of prolactin receptor (PRLR) and leptin (LEP) genes on litter size in polish pigs, *J. Anim. Breed. Genet.*, 2005, vol. 122, pp. 400–404

217. Usatov, A.V., Azarin K.V., Markin N.V., Tikhobaeva V.E., Klimenko A.I., Kolosov Y.A., The relationship between heterosis and genetic distances based on SSR markers in *helianthus annuus* // *American Journal of Agricultural and Biological Science*. 2014. T. 9. № 3. C. 270-276.

218. Van Rens, B., Van Der Lende T., Piglet and placental traits at term in relation to the estrogen receptor genotype in gilts. *Theriogenology* 57 (6), 1651-67, 2002.
219. Varshney, R.K., Graner A., Sorrells M.E. Genomics-assisted breeding for crop improvement // *Trends Plant Sci.* 2005. V. 10. P. 621–630.
220. Vincent, A., Wang, L., Tuggle, C.K., Robic, A., Rothschild, M.F., 1997. Prolactin receptor maps to pig chromosome 16. *Mammalian Genome* 8, 793–794.
221. Vincent, A.L., Evans G., Short T.H., Southwood O.I., Plastow G.S., Tuggle C.K., Rothschild M.F., 1998 – The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. *Proceedings of the 6th World Congress on Genetics of Applied and Livestock Production* 27, 15-18.
222. Vos, P. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting / P. Vos, [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 1995. – Vol. 23. – № 21. – P. 4407–4414.
223. Weisz, F., Urban T., Chalupov P., Knoll A., Association analysis of seven candidate genes with performance traits in Czech Large White pigs/*Czech J. Anim. Sci.*, 56, 2011 (8): 337–344
224. White, C.A., Zhang J.G. Blocking LIF action in the uterus by using a PE Gylated antagonist prevents implantation: a non-hormonal contraceptive strategy. *PNAS* 2007; 104: 49: 19357—19362.
225. Yu, K., L. Getmantseva and N. Shirockova. Sheep Breeding resources in Rostov region, Russia. *World Applied Sci. J.*, 23: 1322-1324., 2013.
226. Ziółkowska, A., Bogdzińska M., Biegniewski J. Polymorphism of prolactin receptor gene (PRLR) in the polish landrace and Polish Large White swine population and reproductive traits. *Journal of Central European Agriculture* Vol. 11 No 4, 2010.