

5. В течение полового цикла был выявлен один пик концентрации ЛГ на 6-7 день. Только на 14-15 день в 1-ой группе обнаружена статистически достоверная разность, по отношению ко второй.

Библиографический список

1. Благодосклонная Я.В., Шляхто Е.В., Бабенко А.Ю. Эндокринология. – Спб.: Спец. лит., 2004.-398 с.
2. Середин В.А. “Биотехнология воспроизводства в скотоводстве: учебное пособие. - Нальчик: ИЦ “Эль-Фа”, 2004. - 472 с., ил.
3. Эрнст Л.К., Варнавский А.Н. Репродукция животных. -М.: Биотех, 2002.- 364 с.
4. Swanson LV, Hafs HD, Morrow DA. Ovarian characteristics and serum LH, prolactin, progesterone and glucocorticoid from first estrus to breeding size in Holstein heifers. J Anim Sci. 1972. - p. 284–293.

УДК 636.4.082: 575.113

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗОЛЯЦИИ И МИГРАЦИИ НА ГАПЛОИДНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КРАСНОЙ БЕЛОПОЯСНОЙ ПОРОДЫ СВИНЕЙ

The effect of genetic isolation and migration on a haploid diversity red white belted breed pig

К.Ф. Почерняев, кандидат биол. наук, с.н.с.

K.F. Pochernyaev

Институт свиноводства и АПП НААН Украины
Institute of Pig Breeding and AIP,
the National Academy of Agricultural Sciences of Ukraine
pochernyaev@mail.ru

Аннотация. ПЦР-ПДРФ анализ митохондриальной ДНК основных семейства красной белопопоясой породы свиней определил гаплогруппы открытых и закрытых субпопуляций. В закрытой субпопуляции свиней определен высокий уровень гаплоидного разнообразия ($H = 0635$), что указывает на генеалогическое структурирование племенного стада. В виду миграции в открытую субпопуляцию мужских особей, снижение гаплоидного разнообразия ($N = 0095$) произошло косвенно, через преобладающее размножение кроссбредных ремонтных свинок. Таким образом, утверждение, что интрогрессия является дополнительной причиной генетической эрозии, находит свое подтверждение и в снижении гаплоидного разнообразия.

Ключевые слова: свиньи, митохондриальная ДНК, красная белопопоясая порода, гаплогруппа, гаплоидное разнообразие.

Summary. PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA major families Red White Belted breed pig identified haplogroups of open and closed subpopulations. In a closed subpopulation of pigs defined high level of haploid diversity ($H = 0635$), indicating the genealogical structuring breeding herd. In due to the migration to an open subset of males, reducing the diversity of haploid ($N = 0095$) occurred indirectly through predominant breeding crossbred replacement gilts. Thus, the claim that introgression is an additional cause of genetic erosion, is confirmed by the decrease in the haploid diversity.

Keywords: mitochondrial DNA, Red White Belted breed pig, haplogroup, haploid diversity.

Селекции чистопородных свиней на увеличение продуктивности их гибридных потомков, мешает низкая генетическая корреляция между продуктивностью чистопородных и гибридных животных. Это ограничение может быть устранено с помощью маркерной селекции. Но эффективное использование маркерной селекции невозможно без широкомасштабного анализа родословных и уменьшения уровня инбридинга [1]. Как в случае использования маркерной селекции так и трансгенных технологий повышения продуктивности животных, на определенном этапе работы, необходимо будет использовать популяции с малой численностью. В отдельных случаях это могут быть даже отдельные животные – основатели популяции. Моделирование основатель-специфической инбредной депрессии (founder-specific inbreeding depression – FSID) определило, что основатель с худшим эффектом инбредной депрессии уменьшал срок использования свиноматки на 10% по сравнению с частично инбредной. Установлено значительную изменчивость в эффектах FSID с вредным, нейтральным и даже с полезным воздействием на срок службы свиноматки. Эта гетерогенность может быть связана с неравным распределением рецессивного вредного генетического груза среди геномов основателей, а также с различным селекционным давлением на каждую генетическую линию к которой принадлежал основатель [2]. Оценить гетерогенность животных и определенных линий потенциально возможно с использованием молекулярно-генетических маркеров. Исследование возможности использования SNP маркеров для оценки линий свиней в условиях случайной комбинации гамет и полигинии показали, что степень достоверности незначительная, но достаточно полезная для практического применения [3]. В связи с этим возникает необходимость вовлечения к оценке гетерогенности свиней различных классов молекулярно-генетических маркеров.

В настоящее время, для оценки гетерогенности свиней используют ДНК-маркеры различных типов. ДНК-маркер это нуклеотидная последовательность ДНК с двумя или более альтернативными вариантами, возникшими вследствие эволюции или генетической инженерии и которую можно определять подходящим способом. Эта последовательность ДНК может быть как с известной хромосомной локализацией, так и анонимной и может использоваться для идентификации генов, групп сцепления, особей, пород, видов или признаков. ДНК-маркером, например, может быть короткая последовательность ДНК, такая как однонуклеотидный полиморфизм (SNP), умеренно длинная как микросателлиты (SSR) или длинные, как Alu-повторы, вариации копий генов (CNV). Наконец, ДНК-маркером является наследственное модификационное изменение молекулы ДНК без изменения нуклеотидной последовательности путем метилирования. Важно, что полиморфные ДНК-маркеры, имеющие различные типы наследования, можно изучать у всех видов домашних животных. При использовании митохондриальной ДНК, главным образом, используют последовательности **D**-петли и гена цитохрома **B**.

Красная белополая порода свиней создана методом сложного воспроизводственного скрещивания 7 отечественных и зарубежных пород свиней: крупной белой, миргородской, ландрас, пьетрен, уэссекс-седлбек, дюрок и гемпшир. Порода утверждена в 2007 году. Генеалогическая структура красной белополой породы свиней состоит из 9 линий и 10 семейств. Численность племенного поголовья по состоянию на 2013 год составляет 661 голову основных свиноматок и 53 головы основных хряков. Разводят их в 4 племзаводах и 6 племрепродукторах разных регионов Украины. По количеству животных в племенных хозяйствах порода занимает 4 место.

Поскольку, в системах гибридизации порода рекомендована как отцовская форма для получения финального гибрида, определение наличия или отсутствия влияния генетической изоляции и миграций на гаплоидную гетерогенность красной белополой породы свиней очевидна.

Материалы и методы. Для исследования были взяты образцы щетины свиноматок основных семейств красной белополой породы ООО «Украина-Т» (n = 32) – закрытая субпопуляция и ООО «ФридомФарм бекон» (n = 20) – открытая субпопуляция. Выделение ДНК проводили с использованием ионообменной смолы Chelex 100 [4]. Амплификацию фрагмента контролирующего региона, который находится между позициями 15534 и 15962 митохондриального генома свиньи, проводили на программированном термостате ТЕРЦИК-2 (ДНК-технологии, Россия) с использованием набора реагентов (ТАПОТИЛИ, Россия) и олигонуклеотидных праймеров собственного дизайна MITPRO2F: cacaacaatgatgtgacccca и MITPROR: gtgagcatgggctgattagtc. [5]. Аликвоту продукта ПЦР (10 мкл) гидролизировали эндонуклеазой Tas I (MBI Fermentas, Литва). Продукты амплификации и гидролиза ДНК анализировали в 8% полиакриламидном геле. Как маркер молекулярной массы использовали ДНК плазмиды BlueScript, гидролизованной эндонуклеазой Msp I. Визуализацию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли путем окрашивания бромистым этидием и фотографированием на трансиллюминаторе в ультрафиолетовом свете.

Популяционно-генетические расчеты выполнены при помощи программы GENALEX 6 [6].

Результаты исследований. На основе анализа пяти однонуклеотидных полиморфизмов митохондриальной ДНК определена специфическая характеристика закрытой субпопуляции красной белополой породы свиней ООО «Украина-Т». Гаплогруппа этой субпопуляции включала пять митохондриальных гаплотипов: **V₁**, **C**, **G**, **N** и **J₁**. В одном образце, идентифицировано наличие двух гаплотипов **V₁+N**. Для выяснения природы этого факта – наличия гетероплазмии или объединения щетины от двух животных при взятии образцов, необходимо дополнительное исследование.

Для данной субпопуляции, характеризующейся генетической изоляцией на протяжении пяти генераций, определен высокий уровень гаплоидного разнообразия (h = 0,635). Это может свидетельствовать о поддержании генеалогической структуризации племенного хозяйства. Значительное количество идентифицированных гаплотипов позволяет генетически маркировать генеалогические семейства.

В выборке субпопуляции свиней ООО «ФридомФарм бекон», характеризующееся низким уровнем эндогамии, определено резкое уменьшение уровня гаплоидного разнообразия (h = 0,095), а гаплогруппа представлена двумя гаплотипами **V₁** и **J₁**, что может быть объяснено промышленным производством свинины, требующим жесткого отбора высокопродуктивных линий в ущерб генеалогической структуризации стада.

Нуклеотидные последовательности митохондриальной ДНК в качестве маркеров гетерогенности имеют свои особенности, поскольку сегрегация митохондриальной ДНК в популяции домашних животных происходит только в результате включения в популяцию женских особей (материнский тип наследования). Так, например, описано существование в гаплогруппе одной породы, как европейских так и азиатских митохондриальных гаплотипов. Это характерно для пород канарийской черной, немецкий и бельгийский пьетрен, крупная белая и ландрас. В противоположность этому, среди разных типов иберийской породы и майоркской черной обнаружен только европейский митохондриальный гаплотип. Авторы сделали вывод, что интрогрессия китайских пород свиней имела место только в основные европейские породы, гаплогруппы которых и сейчас сохраняют в себе азиатские митохондриальные гаплотипы, с частотой от 15 до 56%. В противоположность этому, местные испанские породы свиней, такие, как иберийская и майоркская черная, продемонстрировали наличие только европейского гаплотипа. Эта особенность местных пород, по мнению авторов публикации, свидетельствует об отсут-

вии скрещивания с китайскими или европейскими породами[7]. Вместе с тем известно, что для виводного скрещивания значительно чаще, используют хряков, чем свиноматок.

Поскольку, краснаябелопоясая порода ООО «ФридомФарм бекон» используется как отцовская форма для получения финального гибрида, в исследуемой субпопуляции было произведено виводное скрещивание спородойдюрок. По нашему мнению, в виду включения в субпопуляцию краснойбелопоясой породы ООО «ФридомФарм бекон» хряков породы дюрок, уменьшение уровня гаплоидного разнообразия могло произойти опосредованно, через преимущественный ремонт стада помесными свинками (дюрок × краснаябелопоясая) – потомками свиноматок с гаплотипами **B₁**, **G**.

Заключение. Закрытая субпопуляция свиней с генеалогическим структурированием племенного стада позволяет поддерживать высокий уровень гаплоидного разнообразия (N = 0635). Это может быть также использовано и для ДНК-маркирования генеалогических семейств.

В виду миграции в открытую субпопуляцию мужских особей, снижение гаплоидного разнообразия (N = 0095) произошло косвенно, через преобладающее размножение кроссбредных ремонтных свинок. Очевидно, промышленное производство свинины, требует жесткого отбора высокопродуктивных линий в ущерб генеалогической структуризации стада. Таким образом, утверждение, что интродукция является дополнительной причиной генетической эрозии[8], находит свое подтверждение и в снижении гаплоидного разнообразия.

Библиографический список:

1. Dekkers J.C. Marker-assisted selection for commercial crossbred performance / J.C. Dekkers // J. Anim. Sci. – 2007. – V.85. – P.2104–2114.
2. Casellas J. Skew distribution of founder-specific inbreeding depression effects on the longevity of Landrace sows / J. Casellas, L. Varona, N. Ibáñez-Escriche, R. Quintanilla, J.L. Noguera // Genet. Res. – 2008. – V.90. – P.499–508.
3. Nomura T. Interval estimation of the effective population size from heterozygote-excess in SNP markers // Biom. J. – 2009. – V.51. – P.996–1016.
4. Walsh P.S. Chelex 100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material / P.S. Walsh, D.A. Metzger, R. Higuchi // BioTechniques. – 1991. – №10. – P. 506.
5. Почерняев К.Ф. Визначення гаплотипів свиней з використанням методу породоспецифічного ПЛР-ПДРФ мітохондріальної ДНК / К.Ф. Почерняев // Ветеринарна біотехнологія. – 2005. - №6. – С.138 – 143.
6. Peakall R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall and P.E. Smouse // Molecular Ecology Notes – 2006. – V.6. – P. 288–295.
7. Clop A. Estimating the frequency of Asian cytochrome B haplotypes in standard European and local Spanish pig breeds / A. Clop, M. Amills, J.L. Noguera, A. Fernández, J. Capote, M.M. Ramón, L. Kelly, J.M.H. Kijas, L. Andersson, A. Sánchez // Genet. Sel. Evol. – 2004. – V.36. – P.97–104.
8. Tisdell C. Socioeconomic causes of loss of animal genetic diversity: analysis and assessment / C. Tisdell // Ecological Economics. – 2003. – V.45. – №3. – P.365–376.

УДК 636:612.014.424:591.463.1:636.39

ВЛИЯНИЕ МЕТОДА ЭЛЕКТРОЭЯКУЛЯЦИИ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭЯКУЛЯТА КОЗЛОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

*Electroejaculation method influence
on the characteristics of goats manufacturers ejaculate.*

Н.В. Горшкова, аспирант, М.А. Багманов, доктор вет. наук, профессор,
М.А. Сергеев, кандидат вет. наук, А.Н. Акулов*, кандидат вет. наук
*N.V. Gorshkova, M.A. Bagmanov, M.A. Sergeev, A.N. Akulov**

Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана

* ФГБУ Казанский институт биохимии и биофизики казанского Научного Центра Российской академии наук

Kazan State Academy of Veterinary Medicine

* *FSSI KIBB of Kazan scientific center of the Russian academy of sciences
studies2013@mail.ru*

Аннотация. Цель - изучение влияния метода электроэякуляции на макро- и микроскопические характеристики эякулята, а также количественный и качественный состав белков сыворотки спермы козлов-производителей зааненской породы. Результаты исследований позволяют утверждать, что метод электроэякуляции может быть использован для получения спермы у козлов-производителей зааненской породы. Все макро- и микроскопические характеристики эякулята соответствуют нормативным требованиям к качеству спермы для данного вида животных. Метод и режим получения оказывают влияние на общее количество белка сыворотки спермы и его состав.

Ключевые слова: козлы, эякулят, электроэякулятор, сперма, белок.

Summary. The study of electroejaculation method influence on macro- and microscopic characteristics of ejaculate, as well as the quantitative and qualitative composition of the sperm-producing Saanen goats serum proteins. The research results prove that the method of electroejaculation can be used to obtain