

9. Скрябин К.Г., Алексеев Д.В., Ежова Т.А. и др. Определение типа и положения органов цветка: динамическая модель развития // Известия АН. Серия биол. 2006. №6. С. 645–659.

Резюме

Приведены результаты анализа морфологии растений одиночных мутантов *abr* и *vaf2* и *ap2-1*, двойных мутантов *abr vaf* и *abr ap2-1*, а также результаты изучения уровня экспрессии гена *AP2* в цветках растений дикого типа и мутанта *abr*. Установлено, что при развитии околоцветника гены *AP2* и *ABR/PID1* комплементарно взаимодействуют. Показано увеличение уровня транскрипции гена *AP2* в цветках мутанта *abr*.

We have studied the morphology of single mutants *abr*, *vaf2*, *ap2-1* and double mutants *abr vaf* and *abr ap2-1*, and also the level of *AP2* gene transcription in wild type and *abr* mutant flowers. It is established that *ABR* and *ABR/PID1* genes complementary interact in regulating perianth development. The increasing level of *AP2* transcription was demonstrated in *abr* mutant flowers.

КАМЫШ Н.А., МИХАЙЛОВА М.Е., ВОЛЧОК Н.М., ТИХАНОВИЧ Н.И.

ГНУ “Институт генетики и цитологии НАН Беларуси”,
Республика Беларусь, 220027, г. Минск, ул. Академическая, 27,
e-mail: M.Mikhailova@igc.bas-net.by

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ СВИНЕЙ ПО ГЕНУ РИАНОДИНОВОГО РЕЦЕПТОРА *RYR1*, АССОЦИИРОВАННОМУ С ПОВЫШЕННОЙ СТРЕССЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ

Новые достижения в области биотехнологий дают возможность для качественно новых подходов в селекции свиней. По статистическим данным около половины всего изготовленного в мире мяса занимает свинина. Значительный спрос на постную свинину привел к разработке селекционных программ, направленных на выведение пород животных, характеризующихся высокой мясностью.

В то же время интенсивная селекция свиней на мясность привела к нежелательным тенденциям — ослаблению природной устойчивости, ухудшению качества мяса и увеличению стрессчувствительности (PSS-синдром). Под действием стрессовых факторов, таких как перегрев, скученность, транспортировка, избежать которых в условиях животноводческого комплекса очень трудно, у животных развивается злокачественный гипертермический синдром (MHS — Malignant Hyperthermia Syndrome), наблюдается резкое снижение рН на фоне высокой температуры тела (38–40 °С), что приводит к гибели животных. У таких свиней после убоя происходят быстрые биохимические изменения в скелетной мускулатуре, в результате чего образуется так назы-

ваемое PSE-мясо (бледная, водянистая, рыхлая свинина с кислым привкусом) или наоборот, темная, сухая, жесткая, волокнистая свинина — DFD) [1].

PSS — это генетически обусловленная аномалия, имеет аутосомно-рецессивный тип наследования. Ранее для выявления стрессчувствительности животных использовали галотановый тест [1–3]. Определить наличие мутантного аллеля с помощью этого теста можно только для животных, являющихся рецессивными гомозиготами по RYR-гену, поэтому выбраковка галотан-положительных свиней с целью элиминации дефективного аллеля из популяции неэффективна [4].

MacLennan et al. (1990) и Fujii et. al. (1991) выявили, что причиной злокачественной гипертермии является точковая мутация в рианодин-рецепторном гене в позиции 1843 (C→T) [5]. Эта транзиция приводит к замене аргенина на цистеин в позиции 615 рианодинрецепторного белка, который находится в саркоплазматическом ретикулуме мышечного волокна, что вызывает нарушение основной функции этого белка, в результате чего происходит ряд биохимических изменений, приводящих к развитию злокачественной гипертермии [6–8].

Цель исследований — изучить генетическую структуру некоторых популяций свиней пород крупная белая, белорусская мясная, ландрас, дюрок, йоркшир, пьетрен по локусу гена RYR1, ответственному за повышенную стрессчувствительность.

Материалы и методы

Было проведено ДНК-тестирование хряков-производителей, свиноматок и ремонтного молодняка, разводимых в РУП “С/к “Заря”, ЧСУП “Золак-Агро”, С/к “Яжевичи”, С/к “Багратионовский”, ЗАО “Советская Белоруссия” и РСУП “Брестплемпредприятие”. Ядерную ДНК выделяли из отщипа ушной раковины животных фенольно-хлороформовым методом [9, 10]. Исследование фрагмента гена RYR1 проводили по полиморфизму длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Результаты и обсуждение

Был выявлен полиморфизм гена RYR1, представленный двумя аллелями: N — доминантный дикий, n — рецессивный с точковой мутацией. Определены генотипы: NN — свободные от мутации (устойчивые к стрессу), Nn — скрытые носители, nn — чувствительные к стрессу (табл. 1).

Результаты исследования 482 голов хряков, свиноматок и ремонтного молодняка показали, что стрессчувствительных животных-носителей мутации в гомозиготном рецессивном состоянии (генотип nn) не было выявлено вообще, гетерозиготная форма генотипа (Nn) встречалась с частотой в среднем 3,79%. Мутантный аллель RYRⁿ во всех исследованных хозяйствах встречался приблизительно с одинаковой частотой (0,02–0,03). Наибольшее количество скрытых носителей мутации (Nn-генотип) выявлено в ЗАО “Советская Белоруссия”, а наименьшее — в РУП “С/к “Заря” (5,7% и 2,48% соответственно).

Таблица 1

Генетическая структура хряков-производителей, свиноматок и ремонтного молодняка по локусу гена RYR1

Хозяйство	Группы животных	Комбинация скрещиваний	Кол-во голов	Частота встречаемости генотипов, %			Частота аллелей	
				NN	Nn	nn	N	n
РУП “С/к “Заря”	Хряки	Дюрок	29	96,55	3,45	-	0,98	0,02
			34	100,0	-	-	1,0	-
	Свиноматки		67	95,53	4,47	-	0,98	0,02
	Ремонт	КБ*хЛхЭБ	7	100,0	-	-	1,0	-
		ЭбхДхКБхЭБ	8	100,0	-	-	1,0	-
		БМхБЧПхЭБхЛ	9	100,0	-	-	1,0	-
КБхЭБхБМхБЧП		7	100,0	-	-	1,0	-	
В среднем по хозяйству			161	97,52	2,48	-	0,98± 0,011	0,02± 0,011
ЧСУП “Золак-Агро”	Хряки		25	100,0	-	-	1,0	-
В среднем по хозяйству			25	100,0	-	-	1,0	-
С/к “Яжевичи”	Хряки	Ландрас	7	100,0	-	-	1,0	-
		Эст.бек	5	100,0	-	-	1,0	-
		БМ	2	100,0	-	-	1,0	-
		КБ	5	80,0	20,0	-	0,97	0,3
В среднем по хозяйству			19	94,44	5,56	-	0,99± 0,023	0,1± 0,023
С/к “Багратионовский”	Хряки	Дюрок	5	100,0	-	-		
		КБ	6	100,0	-	-		
		БМ	9	100,0	-	-		
		Эст.бек	3	100,0	-	-		
	Свиноматки	КБ	90	92,13	7,87	-	0,96	0,04
	Ремонт		80	96,25	3,75	-	0,98	0,02
В среднем по хозяйству			193	94,79	5,21	-	0,97± 0,012	0,03± 0,012
ЗАО “Советская Белоруссия	Хряки	КБ	9	100,0	-	-	1,0	-
		Дюрок	7	85,72	14,28	-	0,93	0,07
		Пьетрен	2	50,0	50,0	-	0,50	0,50
		Эст.бек	3	100,0	-	-	1,0	-
		Ландрас	14	100,0	-	-	1,0	-
В среднем по хозяйству			35	94,3	5,7	-	0,97± 0,028	0,03± 0,028

*КБ — крупная белая, Л — ландрас, ЭБ — эстонская беконная, БМ — белорусская мясная, Д — дюрок, БЧП — белорусская черно-пестрая.

Продолжение табл. 1

Хозяйство	Группы животных	Комбинация скрещиваний	Кол-во голов	Частота встречаемости генотипов, %			Частота аллелей	
				NN	Nn	nn	N	n
РСУП “Брест- плем пред- приятие”	Хряки	Ландрас	20	100,0	-	-	1,0	-
		Йоркшир	20	100,0	-	-	1,0	-
		Дюрок	5	100,0	-	-	1,0	-
		ЛхД	5	100,0	-	-	1,0	-
В среднем по хозяйству				100,0	-	-	1,0	-
ВСЕГО			482	96,21	3,79	-	0,98± 0,006	0,02± 0,006

*КБ — крупная белая, Л — ландрас, ЭБ — эстонская беконная, БМ — белорусская мясная, Д — дюрок, БЧП — белорусская черно-пестрая.

Таблица 2

Частоты генотипов и аллелей RYR1-гена у свиней плановых пород Республики Беларусь

Порода	Кол-во голов	Частота встречаемости генотипов, %			Частота аллелей	
		NN	Nn	nn	N	n
Дюрок	46	95,4	4,6	-	0,98	0,02
Пьетрен	2	50,0	50,0	-	0,5	0,5
Ландрас	41	100,0	-	-	1,0	-
Эст. Бек.	11	100,0	-	-	1,0	-
КБ	20	93,3	6,7	-	0,97	0,03
БМ	11	100,0	-	-	1,0	-
Йоркшир	20	100,0	-	-	1,0	-

Среди чистопородных хряков пород эстонская беконная, ландрас, белорусская мясная, йоркшир и помесных животных полиморфизма по RYR-гену выявлено не было (табл. 2). Из исследованных животных пород дюрок, крупной белой и пьетрен 4,4%, 6,7% и 50% животных, соответственно, были гетерозиготными носителями злокачественной гипертермии. Такой высокий процент носителей мутации среди животных породы пьетрен с одной стороны может быть связан с недостаточностью выборки, однако такие показатели хорошо сочетаются с литературными данными, согласно которым наличие мутантного аллеля у породы пьетрен составляет 31–100% [11].

Заключение

Проблема скрининга племенной продукции очень актуальна, особенно в условиях интенсивного завоза высокопродуктивных племенных животных из-за рубежа. Проведение генотипирования по RYR-гену позволяет выявить и удалить из популяции скрытых носителей злокачественной гипертермии,

что будет способствовать увеличению откормочной, мясной продуктивности и улучшению качества свинины.

Литература

1. *Archibald A.L.* Inherited halothane-induced malignant hyperthermia in pigs // Breeding for disease resistance in farm animals.— CAB Intern.— Wallingford, Oxon, UK.— 1991.— P. 449–466.
2. *Eds. Chrousos G.P.* Stress: basic mechanisms and clinical implications // Annals of The New York Acad. Sci.— 1995.— V.771.— P. 755.
3. *Bouchard T.J.* Genes, environment and personality // Science.— 1994.— V.264.— P. 1700–1711.
4. *Тониха В.С., Стародубець О.О.* Стрессчувливість свиней породи дюрок внутрішньопородного типу “Степовий”.— Вісник аграрної науки Причорномор’я.— Вип.2.— 2008.— С. 150–154.
5. *Fujii J., Otsu K., Zorzato F. et al.* Identification of mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia // Science.— 1991.— V.253.— P. 448–451.
6. *Hardge T., Scholz A.* The influence of RYR1-genotype and breed on fattening performance carcass value and meat quality // 45th Annual Meeting of the EAAP.— Edinburg.— september 5–8.— 1994.— P. 340.
7. *Russo V.* Study of halothane locus by PCR-typing of CRC gene in pig breeds reared in Italy // Int: Abstr. XXIV. Int. Conf. Anim. Genetics.— Praha.— 1994.— P. 137.
8. *O’Brien P.J.* Porcine malignant hyperthermia susceptibility: Hypersensitive calcium — release mechanism of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum // Vet. Res. Commun.— 11.— 1987.— P. 527–559.
9. *Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А.* Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных.— Материалы международной научной конференции.— Дубровицы.— 2002.— С. 44.
10. *Калашикова Л.А., Дунин И.М., Глазко В.И. и др.* ДНК-технология оценки сельскохозяйственных животных.— ВНИИплем.— 1999.— 148 с.
11. *Шейко И.П., Епишко Т.И., Подскребнин Н.В. и др.* Зоотехническая наука Беларуси: Сб. науч. тр.— Т.39.— 2004.— С. 166–170.

Резюме

Проведено исследование генетической структуры некоторых популяций свиней плановых пород РБ по локусу гена RYR1. Выявлено, что частота предпочтительного аллеля *N* RYR-гена составляет 0,98. Показано, что в исследованной выборке животных мутантный *n*-аллель встречается в породах дюрок, крупная белая и пьетрен.

A genetic structure of some pig populations of major breeds in RB was studied for RYR1 gene locus. The frequency of the preferable allele *N* of RYR-gene was revealed to be 0,98. The mutant *n*-allele was shown to occur in Duroc, Large White and Pietrain breeds of the studied sample.

КИРИКОВИЧ С.С., ЛЕВИТЕС Е.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН,

Россия, 630090, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 10, e-mail: svetak@bionet.nsc.ru

ВЛИЯНИЕ ТРИТОНА X-100 И КОЛХИЦИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ФЕРМЕНТНЫХ ГЕНОВ В НЕПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЕНАХ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Всхожесть семенных партий и, соответственно, доля непрорастающих семян зависит от генотипа исследуемой формы и условий прорастания. Непроросшее семя не имеет никаких отличительных признаков по сравнению с потенциально способными к прорастанию, но не проросшими семенами. Наиболее приемлемый путь изучения непроросшего семени — анализ у него биохимических и молекулярных признаков. Надежными и удобными биохимическими маркерами являются изоферменты [1, 2], позволяющие идентифицировать в потомствах гетерозиготных растений все теоретически возможные фено- и генотипические классы.

Для изучения непрорастающих семян целесообразно использовать одну и ту же генетическую форму, проращивая её в разных условиях. Менять условия можно, воздействуя на прорастающие семена веществами, дающими известный биологический эффект. К таким веществам относятся, например, колхицин [3, 4] и Тритон X-100 (ТХ-100) [5, 6]. Колхицин, вызывает увеличение содержания ДНК в клетке и связанные с этим наследуемые изменения многих признаков у растений [3], но уменьшает прорастание семян и жизнеспособность растений [4]. ТХ-100 способен снижать прорастание семян пшеницы и вызывать у обработанных растений морфологические изменения, наследуемые в половых поколениях [5]. В исследованиях, проведенных на сахарной свекле, было показано, что воздействие ТХ-100 на семена сахарной свеклы приводит к изменению динамики их прорастания и к последующему изменению морфологических признаков листа и корня [6]. Хотя в предварительных экспериментах, проведенных на сахарной свекле, не было отмечено уменьшения под влиянием ТХ-100 прорастания семян, но было выявлено уменьшение жизнеспособности обработанных растений (не опубликовано). Из этого факта можно сделать вывод о том, что не все возникающие под действием ТХ-100 изменения проявляются сразу же, но значительная их часть проявляется в последующие периоды развития растения.

Поскольку ТХ-100 является детергентом, представляет интерес анализ ферментов, связанных с мембранами и субклеточными органеллами, и сравнение получаемых данных с результатами исследования ферментов, локализованных в растворимой части цитоплазмы. К таким ферментам растений, относится, например, глюкозофосфатизомераса (GPI), которая представлена изоферментами, локализуясь как в растворимой части цитоплазмы, так и в органеллах [7]. Известно, что изоферменты GPI, локализованные в растворимой части цитоплазмы, могут при определенных функциональных состояниях клетки связываться с мембранами органелл [8]. В то же время