

HAL GENO ĮVAIROVĖ S LINIJOS KIAULIŲ BANDOJE. GENO ĮTAKA KIAULIŲ REPRODUKČINĖMS SAVYBĖMS

Janina Kriauzienė, Ilona Miceikienė, Angelė Masiulienė, Lina Baltrėnaitė
Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT – 47181 Kaunas; tel. (8~37) 36 35 75;
el. paštas: kriauziene@lva.lt

Santrauka. 6-oje kiaulių chromosomoje nustatytas HAL genas, kuris lemia kiaulių jautrumą aplinkos veiksniams. Stresams jautrios kiaulės mažiau rezistentiškos, prastesnės jų reprodukcinės, penėjimosi savybės, blogesnė mėsos kokybė. Tokių kiaulių dažniau sutinkama tarp mėsinų veislių, kurios ilgą laiką buvo selekcionuojamos mėsingumo kryptimi. Manoma, kad mėsingumą lemiantis genas lokalizavęsis šalia streso (HAL) geno, todėl, vykdant selekciją mėsingumo kryptimi, gyvulių organizme vykstantys intensyvūs metabolizmo procesai skatina masės augimą ir kartu prastina adaptacines savybes.

Įvairių veislių ir linijų kiaulės nevienodai reaguoja į stresus. Jautriausi stresams yra pjūrenai ir įvairios selekcijos landrasai. Tėvinė S kiaulių linija išvesta iš pjūrenų. Nustatyta, kad šioje linijoje HAL genas nėra eliminuotas. Jis yra heterozigotinės (NP) būsenos. Atlikus stresams atsparių ir streso geno nešiotųjų paršavedžių reprodukcijos analizę, patikimų skirtumų tarp atskirų rodiklių nenustatyta, tačiau išryškėja tendencija, kad ši geną turinčių paršavedžių reprodukcinės savybės blogesnės: apvaisinimas pirmo sėklinimo metu mažesnis 1,1%, vislumas – vidutiniškai 0,21 paršelio, pieningumas – 3,22 kg, paršelių išsaugojimas – 6,3%. Po nujunkymo iki 7-os dienos suruoja 77,2% stresams atsparių ir 62,5% streso geną turinčių paršavedžių.

Raktažodžiai: tėvinės linijos, streso sindromas (PSS), HAL genas, reprodukcinės savybės.

HAL GENE POLYMORPHISM IN S LINE PIG HERDS AND ITS INFLUENCE ON PIG REPRODUCTION TRAITS

Summary. It was defined that the HAL gene on the sixth pig chromosome influences the sensitiveness of pigs. Pigs that have a strong reaction to stress seem to be less resistant and have reduced meat quality. This type of pigs detected among pig breeds more frequently. Intensive metabolic processes in these animals induce growth but adaptation features are affected negatively.

Different breeds and lines have different reactions to stress. The most sensitive are Pietrain and different Landrace breeds. The S boar line is developed from the Pietrain breed. It was found that in this line the HAL gene is not fully eliminated. We can find pigs that are heterozigotic (NP status), so called HAL gene carriers. 75 % of sows tested were stress resistant and 25% were HAL gene carriers. The HAL gene influenced reproduction traits of sows- HAL gene carriers had fertilization rates less than 1.1%, litter size - on average reduced with 0.21 piglets, milk yield was reduced by 3.22 kg., and piglet survival was reduced by 6.3%.

Keywords: male lines, porcine stress syndrome (PSS), HAL gene, reproduction traits.

Įvadas. Kiaulių produktyviasias savybes veikia tiek fenotipiniai, tiek genetiniai faktoriai. Kiaulių autosomose atrasti genai arba genų grupės, lemiantys vislumą, penėjimosi spartą, raumeningumą, mėsos kokybę, rezistentiškumą ligoms (Fiedler et al., 1999). Vienas iš tokių yra 6-oje kiaulių chromosomoje atrastas recesyvinis Halotano genas (Brenig, Brem, 1992). Jis paveldimas autosominiu būdu, t. y. jei genas homozigotinės būsenos (PP), kiaulės jautrios stresams, jei heterozigotinės (NP) – tokios kiaulės yra šio geno nešiotojos (Gahne, Juneja, 1985).

Stresams jautrios kiaulės mažiau rezistentiškos, prastesnės jų reprodukcinės, penėjimosi savybės, prastesnė mėsos kokybė. Tokių kiaulių skerdenose daugiau yra mėsos su PSE (pale, soft, exudative – blyški, minkšta, vandeninga) bei DFD (dark, firm, dry – tamsi, kieta, sausa) sindromais. Tokią mėsą perdurbant didėja gamybos kaštai, mažėja produkcijos išeiga, o galiausiai – blogėja ekonominiai kaulienos gamybos rodikliai (Gahne, Juneja, 1985; Smet et al., 1997; Тимофеев, 1997; Василенко и др., 2003).

Įvairių veislių kiaulės į stresus reaguoja skirtingai. Labai produktyvių veislių gyvuliai yra jautresni. Dažniausiai tai mėsinų veislių kiaulės, ilgai

selekcionuotos mėsingumo kryptimi. Tokių gyvulių organizme vykstantys intensyvūs metabolizmo procesai skatina masės augimą, o adaptacines savybės prastėja. Jautriausi stresams yra pjūrenai ir įvairios selekcijos landrasai (Knorr et al., 1994; Klimas, 2002; Miceikienė, Jokubka, 2000; Jokubka, Miceikienė, 2001). Tėvinė S kiaulių linija išvesta iš pjūrenų. Šios linijos kiaulių produktyviosios savybės ir eksterjeras panašus į mums įprastų pjūrenų: kiaulės labai raumeningos, gera pašarų konversija, ypač gerai išsivystę kumpiai. Nuo įprastų pjūrenų jos skiriasi balta spalva ir atsparumu stresams (Kriauzienė, 2003). Pagrindiniai šios linijos kiaulių selekcionuojamieji požymiai yra pašarų konversija, priesvoris per parą, lašinių storis ir raumeningumas.

Darbo tikslas – ištirti HAL geno įvairovę tėvinės S kiaulių linijos „Avenos“ veislyno bandoje ir šio geno įtaką kiaulių reprodukcinėms savybėms.

Medžiagos ir metodai. Tyrimai atlikti 2002–2004 metais Pakruojo r. „Avenos“ kiaulių veislyne bei LVA Gyvūnų veisimo ir genetikos katedros K. Janušausko gyvūnų genetikos laboratorijoje. „Avenos“ kiaulių veislyne grynųjų veisimu veisiamos Olandijos selekcijos tėvinės S linijos kiaulės. Tirtos šio veislyno bandos paršavedės.

HAL genui tirti buvo imami kiaulių šeriai. Genominė DNR buvo skiriama iš šerių svogūnėlių pagal dr. Van Haeringen metodiką (Laboratory of Van Haeringen, Olandija). Kiaulių HAL geno įvairovei identifikuoti taikytas PGR-RFIP (polimerazės grandinės reakcijos restrikcinių fragmentų ilgio polimorfizmo) metodas (Sakai et al., 1988; Braun, Chase, 1999).

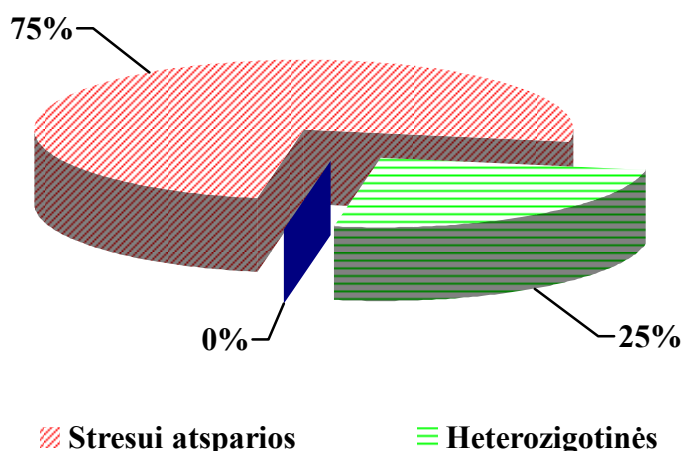
HAL geno variantų tyrimas. HAL geno variantams nustatyti PGR reakcijai panaudoti šie pradmenys: HAL 1 5'-GTG-CTG-GAT-GTC-CTG-TGT-TCC-CT -3' ir HAL 2 5'-CTG-GTG-ACA-TAG-TTG-ATG-AGG-TTT-G-3'. PGR reakcijai panaudoti reagentai: 12 µl ddH₂O, 5 µl 10xPCR buferis, 5 µl dNTP (2 mM), 3 µl MgCl₂ (25 mM), 2,2 µl HAL 1, 2,7 µl HAL 2, 0,5 µl BSA, 1 µl *Taq* polimerazė. PGR reakcija vykdoma amplifikatoriuje (AppliedBiosystem; GeneAmp PCR System 2700) tokiu režimu: 94°C temperatūroje 3 min., 31 ciklas (94°C temperatūroje 15 sek., 69°C 15 sek., 72°C 35 sek.) 72°C – 5 min. Amplifikuotas PGR produktas (134 bp dydžio) karpomas *Alw21I* ir *Hin6I* restrikciniiais fermentais (MBI Fermentas, Lietuva; 10 units/20ml, 37°C). 10 µl PGR produkto karpoma su 10 µl restrikcinio mišinio (7,5 µl ddH₂O, 2 µl 10xMbuf., 0,5 µl. *Alw21I* arba *Hin6I*). Paliekama termostate nakčiai (15 h) 37°C temperatūroje. Karpytas PGR produktas elektroforezės būdu frakcionuojamas 3% agarozės gelyje, 100 V 35 min. Gelis dažomas etidžio bromidu 15–20 min. ir analizuojamas

UV šviesoje (bangos ilgis 300 nm) „Bio Doc 1000“ videodokumentavimo prietaisu (BioRad, USA). DNR fragmentų dydžiai priklauso nuo HAL geno alelių dydžių. Panaudojus specifinius HAL genui pradmenis polimerazinėje grandininėje reakcijoje (PGR) bei įvertinus restrikcinių fermentų ilgio polimorfizmą (RFIP), išskirti stresui jautrūs gyvuliai (PP), streso geno nešiotojai (NP) ir stresui atsparūs gyvuliai (NN) (Gahne, Juneja, 1985; Knorr et al., 1994).

Antrame darbo etape buvo analizuojama paršavedžių reprodukcija: sėklinimų rezultatai, embrioninio laikotarpio trukmė, nujunkytų paršavedžių rujanimas, vislumas, 21-os dienos paršelių skaičius ir lizdo svoris, atjunkomų paršelių skaičius, svoris bei viso lizdo svoris atjunkymo metu (31 amžiaus dieną), nustatytas paršelių išlikimo procentas.

Statistinė duomenų analizė. Skaičiavimai atlikti statistiniu R-paketu (Gentlemen, Ihaka, 1997).

Tyrimų rezultatai ir aptarimas. Ištirus S linijos paršavedes HAL geno atžvilgiu nustatyta, kad 75,0% veislyne laikomų paršavedžių stresui yra atsparios (NN), 25,0% – streso geno nešiotojos (NP). Stresui jautrių paršavedžių nenustatyta (1 pav.). Vykdamas kiaulių monitoringą pagal HAL geną, Lietuvoje (1998–2001 metais) tarp paršavedžių buvo nustatyta 4,73% stresui jautrių kiaulių, 13,3% HAL geno nešiotų ir 81,97% stresui atsparių kiaulių (duomenys nepublikuoti).



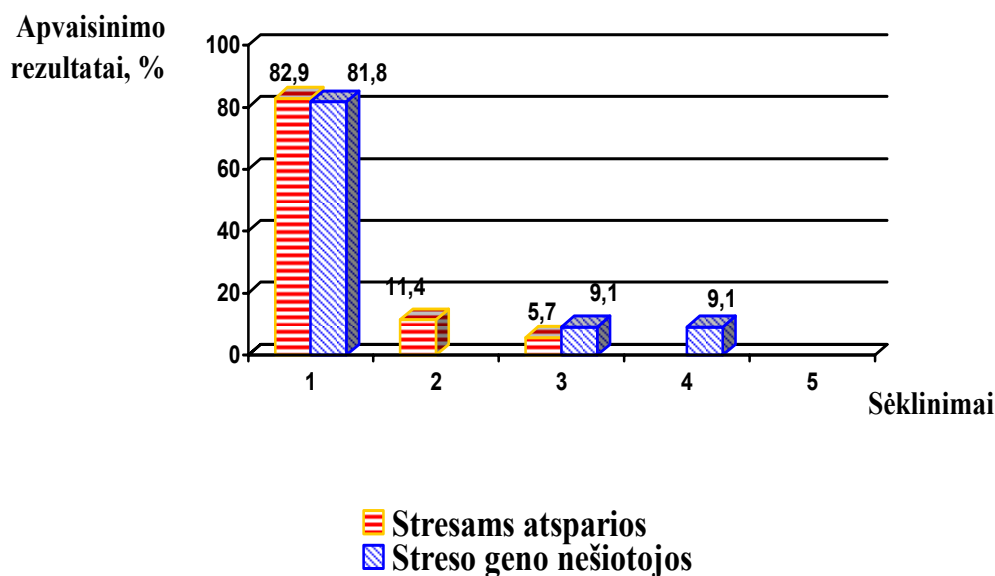
1 pav. S linijos paršavedžių HAL geno tyrimo rezultatai

Stresas yra vienas iš veiksnių, turinčių neigiamą įtaką kiaulių lytinėms funkcijoms. Dėl streso padidėja adrenalino kraujyje, blokuojamas lytinių hormonų skyrimasis, todėl kiaulės blogiau apvaisina (Šiukčius, 2004). Kiaulių sėklinimo analizė parodė, kad po pirmo sėklinimo stresui atsparių paršavedžių apvaisinimas 1,1% didesnis už streso geno nešiotų. Stresams atsparios paršavedės geriau apvaisina ir antro sėklinimo metu, tuo tarpu net 18,2% streso geno nešiotų sėklinamos trečią ir ketvirtą kartą (2 pav.).

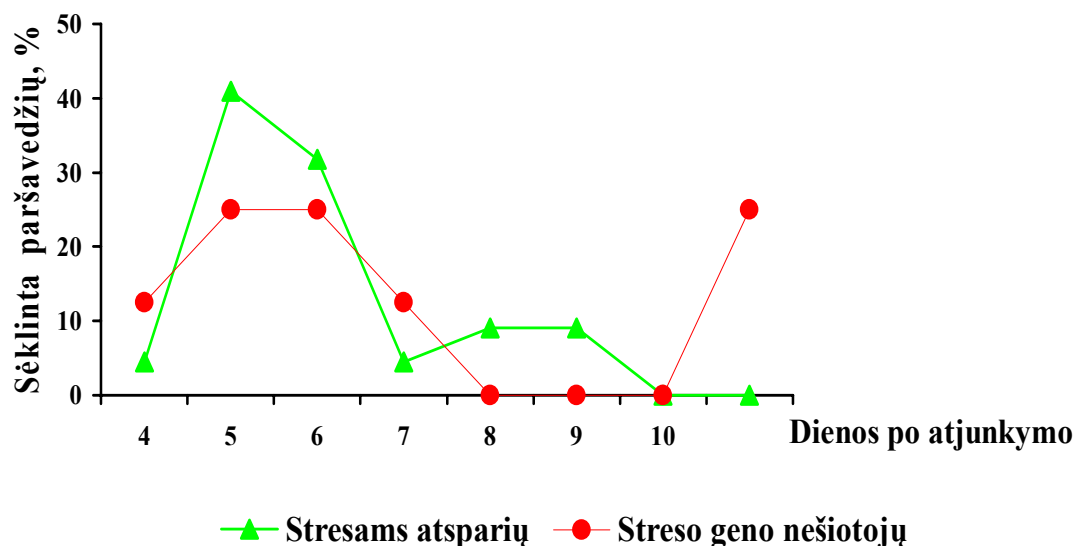
Siekiant didesnio paršavedžių produktyvumo, labai svarbu, kad atjunkytos jos vėl pradėtų greitai rujanoti. Nustatyta, kad paršavedės, kurių atjunkymo-sėklinimo intervalas trumpas, veda didesnes vadas, geriau

apsivaisina po pirmo sėklinimo, per metus atsiveda daugiau paršelių. Paršavedžių, sėklinamų 7 – 10 dieną po atjunkymo, rezultatai prastesni. Tyrimų duomenimis, 5-ą dieną nujunkius paršelius buvo sėklinta 40,9% stresams atsparių ir tik 25% streso geno nešiotų paršavedžių, 6-ą dieną sėklinta 31,8% stresams atsparių ir 25% streso geno nešiotų paršavedžių. Iki 7-os dienos nuo atjunkymo suruoja 77,2% stresams atsparių ir 62,5% streso geną turinčių paršavedžių. 25% streso geną turinčių paršavedžių atjunkymo-sėklinimo intervalas buvo ilgesnis nei 10 dienų (3 pav.).

S linijos stresams atsparių ir streso geno nešiotų paršavedžių embrioninis laikotarpis iš esmės nesiskyrė (atitinkamai 115,2 ir 115,0 dienų).



2 pav. S linijos paršavedžių sėklinimų rezultatai



3 pav. S linijos paršavedžių atjunkymo-sėklinimo laikotarpis

Stresams jautrios paršavedės veda mažiau paršelių, kurie nujunkymo metu yra mažesnio svorio (Klimas, 2002). Lyginant stresams atsparių ir streso geną nešiojančių S linijos paršavedžių reprodukcinės savybės

patikimų skirtumų nenustatyta, tačiau stresams atsparios paršavedės vedė vidutiniškai 0,21 paršelio daugiau, o jų pieningumas buvo 3,22 kg didesnis ($p>0,05$) (lentelė).

Lentelė. S linijos paršavedžių reprodukcinės savybės

Rodikliai	Stresui atsparios			Streso geno nešiotojos		
	x	$\pm m_x$	δ	x	$\pm m_x$	δ
Vadų skaičius	21			8		
Paršavedžių vislumas, vnt.	9,48	0,38	1,72	9,27	0,69	1,83
Paršelių skaičius 21 amžiaus dieną, vnt.	8,19	0,35	1,57	7,38	0,64	1,69
Paršelių lizdo masė 21 amžiaus dieną, kg	58,10	3,10	13,89	54,88	5,44	14,39
Atjunkomų paršelių skaičius, vnt.	7,71	0,43	1,90	7,13	0,65	1,73
Atjunkomų paršelių lizdo masė 31 amžiaus dieną, kg	84,57	5,51	24,65	82,25	10,91	28,87
Atjunkomo paršelio masė 31 amžiaus dieną, kg	11,00	0,46	2,04	11,38	1,00	2,64
Paršelių išsaugojimo %	83,20	4,54	20,29	76,93	9,04	23,93

Beje, stresams atsparių paršavedžių grupėje šie požymiai labiau konsoliduoti (Cv atitinkamai 18,1% ir 23,9%). Analizuodami atjunkomų paršelių masę matome, kad streso geną turinčių paršavedžių paršeliai atjunkomi svėrė 0,38 kg daugiau, tačiau skirtumas nėra statistiškai patikimas ($p>0,05$). Atjunkymo metu streso geną turinčių paršavedžių paršeliai ženkliai skyrėsi pagal išsivystymą (Cv – 23,2%), tuo tarpu stresams atsparių paršavedžių paršeliai atjunkymo metu buvo vienodesni (Cv – 18,5%). Ypač ryškų skirtumą tarp stresams atsparių ir streso geną nešiojančių paršavedžių matome analizuodami paršelių išsaugojimą iki atjunkymo. Streso geną turinčių paršavedžių grupėje paršelių krenta 6,3% daugiau.

Išvados.

1. HAL genas nėra eliminuotas tėvinėje S kiaulių linijoje. Jis sutinkamas heterozigotinės (NP) būklės.

2. S linijoje būtina vykdyti HAL geno selekciją. Siekiant išvengti HAL geno perėjimo į homozigotinę būklę, negalima poruoti heterozigotinių (NP) gyvulių.

3. Patikimų skirtumų tarp S linijos HAL genui atsparių (NN) ir ši geną turinčių (NP) paršavedžių reprodukcinų savybių rodiklių nenustatyta, tačiau ši geną turinčių paršavedžių reprodukcinės savybės blogesnės: pirmo sėklinimo metu apvaisinimas mažesnis 1,1%, vislumas – vidutiniškai 0,21 paršelio, pieningumas – 3,22 kg, paršelių išsaugojimas – 6,3%. Po nujunkymo iki 7-os dienos suruoja 77,2% stresams atsparių ir 62,5 % streso geną nešiojančių paršavedžių.

Literatūra

- Braun L. J., Chase C. C. L. Diagnostic porcine polymerase chain reaction assay. The future is here. 1999. Swine Health Produc. 7(1). P. 37–40.
- Brenig B., Brem G. Molecular cloning and analysis of the porcine „halothane“ gene. 1992. Arch. Thierz. 35. P. 129–135.
- Fiedler I., Ender K., Wicke M., Maak S., Lengenken G., Meyer W. Structural and functional characteristic of muscle fibers in pigs with different malignant hyperthermia susceptibility (MHS) and different meat quality. 1999. Meat Sci. 53. P. 9–15.
- Gahne B., Juneja R. K. Animal Blood Groups and Biochemical Genetics. Department of Animal Breeding and Genetics. Swedish University of Agricultural Science. 1985. Vol. 1b. P. 265–83.
- Gentlemen R., Ihaka R. Notes on R: A programming environment for data analysis and graphics. 1997. Department of statistics university of Auckland.
- Jokubka R., Miceikienė I. Streso geno paplitimas tarp Lietuvos veislininkystės įmonėse veisiamų kulių. Veterinarija ir zootechnika. Kaunas. 2001. T. 14 (36). 67–72 p.
- Klimas R. Metodai ir priemonės Lietuvoje veisiamų kulių ūkinėms – biologinėms savybėms gerinti. Habilitacinio darbo santrauka. Kaunas. 2002. 23–25 p.
- Knorr C., Schwille M., Moser G. et al. Calcium-release-channel genotypes in several pig populations – associations with halothane and CK reactions. J. Anim. Breed. Genet. 1994. Vol. 111. P. 243–252.
- Kriauzienė J. Tarplinijinė hibridizacija. Ar yra galimybė ją pasirinkti? Kiaulių auginimas. Vetinfo. Kaunas. 2003. Nr. 8–9. 15–16p.
- Miceikienė I., Jokubka R. Porcine Stress Syndrome (PSS) - identification, gene frequencies and selection for stress resistant pigs. The 6th Baltic Animal Breeding Conference, Jelgava. 2000. 16–18p.
- Sakai R., Gelfand D.H., Stoffel S., Scarf S. J., Higuchi R., Horn G. T., Mullis K. B., Erlich H. A. Primer - directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Anim. Sci. 1988. Vol. 239. P. 487–491.
- Smet S. D., Bloemen H. G., Voorde G.V. d. Spincemaille G., Berckmens D. Meat and Carcass Quality of Two Pigs Lines and Their Crosses Differing in Stress Susceptibility. 1997. 48th Annual Meeting of the EAAP, Austria.

13. Šiukčius A. Kiaulių reprodukcijos klausimai. Kiaulių veislininkystės aktualijos. Seminaro pranešimai. Baisogala. 2004. 24–32p.

14. Тимофеев П. К проблеме селекции свиней на стресс – устойчивость и роль при этом племенных хозяйств. Свиноводство. Москва. 1997. No. 6. С. 22–23.

15. Василенко В., Руденко В., Максимов Г., Максимов А. Влияние стресс – факторов на интерьер поросят. Свиноводство. Москва. 2003. No. 1. С. 3–6.