

М.А. КОВАЛЬЧУК, А.И. ГАНДЖА, Н.В. ЖУРИНА, О.П. КУРАК,  
В.П. СИМОНЕНКО, Л.Л. ЛЕТКЕВИЧ, И.В. КИРИЛЛОВА,  
А.О. ЛУКЪЯНЧИК

## ГЕНОТИПИРОВАНИЕ СВИНЕЙ ПО ГЕНАМ H-HABP И RYR1 МЕТОДОМ ПЦР-ПДРФ

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук  
Беларуси по животноводству»

Проведено генотипирование свиней по генам H-HABP и RYR1 методом ПЦР-ПДРФ. Объектом исследования являлись свиньи белорусской чёрно-пёстрой породы (БЧП), разводимые в племенных предприятиях республики. При молекулярно-генетическом тестировании выявлен полиморфизм генов H-HABP и RYR1 у животных различных популяций и половозрастных групп (хряки-производители, свиноматки), представленный аллелями H-HABP<sup>H</sup>, H-HABP<sup>h</sup>, H-HABP<sup>D</sup>, H-FABP<sup>d</sup>, RYR1<sup>N</sup>, RYR1<sup>n</sup>, и идентифицированы генотипы: H-HABP<sup>HH</sup>, H-HABP<sup>Hh</sup>, H-HABP<sup>hh</sup>, H-HABP<sup>DD</sup>, H-HABP<sup>Dd</sup>, H-HABP<sup>dd</sup>, RYR1<sup>NN</sup>, RYR1<sup>Nn</sup>. Установлено, что в изучаемых популяциях наибольшая концентрация предпочтительного генотипа H-HABP<sup>HH</sup> наблюдалась у хряков-производителей – 73,53 % (КСУП «П/з «Ленино»), а наименьшая у свиноматок – 50 % (ОАО «СГЦ «Вихра»). Среднее значение частоты встречаемости этого генотипа по породе составило 62,77 %. Предпочтительный генотип H-FABP<sup>dd</sup> встречался только у свиноматок из КСУП «П/з «Ленино», его концентрация составила 1,04 %, в среднем по породе – 0,53 %. В целом концентрация желательного аллеля H-FABP<sup>d</sup> у животных исследуемой породы находилась на низком уровне и составила 0–0,111. По гену RYR1 в среднем по породе частота встречаемости животных с генотипом RYR1<sup>NN</sup>, свободных от мутации, составила 90,48 %, носителей другого аллеля RYR1<sup>Nn</sup> – 9,52 %.

**Ключевые слова:** генотипирование, свиньи, селекционно-гибридный центр, полиморфизм, хряки-производители, свиноматки, генотип, аллель, генетическая структура, селекция.

М.А. KOVALCHUK, A.I. GANDZHA, N.V. ZHURINA, O.P. KURAK, V.P. SIMONENKO,  
L.L. LETKEVICH, I.V. KIRILLOVA, A.O. LUKYANCHIK

## GENOTYPING OF PIGS ACCORDING TO H-HABP AND RYR1 GENES BY PCR-RFLP METHOD

RUE «Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences  
of Belarus on Animal Husbandry»

Genotyping of pigs according to H-HABP and RYR1 genes by PCR-RFLP method was carried out. The research subject were the pigs of the Belarusian black-motley breed (BMB), reared at the breeding enterprises of the republic. Molecular genetic testing helped to reveal the polymorphism of H-HABP and RYR1 genes in animals of different populations and sex-and-age groups (producing boars, sows) represented by alleles H-HABP<sup>H</sup>, H-HABP<sup>h</sup>, H-HABP<sup>D</sup>, H-FABP<sup>d</sup>, RYR1<sup>N</sup>, RYR1<sup>n</sup>, and the following genotypes were identified: H-HABP<sup>HH</sup>, H-HABP<sup>Hh</sup>, H-HABP<sup>hh</sup>, H-HABP<sup>DD</sup>, H-HABP<sup>Dd</sup>, H-HABP<sup>dd</sup>, RYR1<sup>NN</sup> and RYR1<sup>Nn</sup>. It was determined that the highest concentration of the preferred H-HABP<sup>HH</sup> genotype in the

experimental populations was observed in producing boars - 73.53 % (KSUP "P/z "Lenino"), and the lowest in sows - 50 % (JSC "SGC "Vihra"). The average frequency of this genotype occurrence for the breed made 62.77 %. The preferred genotype H-FABP<sup>dd</sup> was found only in sows at KSUP "P/z "Lenino", its concentration was 1.04%, the average for the breed - 0.53%. In general, the concentration of the preferred H-FABP<sup>d</sup> allele in animals of researched breed was low and made 0-0.111. According to RYR1 gene, the average frequency of occurrence of animals with genotype RYR1<sup>NN</sup> free of mutation made 90.48 %, carriers of the mutant allele RYR1<sup>Nn</sup> - 9.52 %.

**Key words:** genotyping, pigs, selection-and-hybrid center, polymorphism, producing boars, sows, genotype, allele, genetic structure, selection.

**Введение.** Полиморфные генетические системы, используемые в качестве маркеров в племенном животноводстве, являются потенциально полезными для решения ряда задач: повышения устойчивости животных к болезням, выявления отклоняющихся и типичных генотипов, мутаций, изменений генома в процессе селекции, усовершенствование признаков продуктивности [1, 2].

Главный критерий интенсивного развития свиноводства – целенаправленное формирование улучшенного поголовья животных, от которых при минимальных затратах возможно получение высокого прироста требуемого качества сельскохозяйственной продукции.

Применение ДНК-маркеров в селекции свиней даёт возможность результативно оценивать генетический потенциал животных и проводить отбор по комплексу признаков продуктивности, а также разрабатывать эффективные программы разведения животных на основе новых технологий [3, 4].

Наиболее важным селекционным признаком свиней является мясная продуктивность. На качество мяса и его технологические свойства оказывает влияние ген H-FABP, кодирующий белок, связывающий жирные кислоты, детерминирующий содержание внутримышечного жира. Зарубежные исследователи установили, что предпочтительным для селекции является генотип H-FABP<sup>HHdd</sup> [5]. По утверждению ряда зарубежных авторов, биологическая особенность гена H-FABP заключается в кодировании белков, участвующих в липидном обмене, основная функция которых связывание длинных цепочек жирных кислот и перенос их внутри клетки к различным органеллам. В процессе липидного обмена происходит жиросотложение между волокнами мышечной ткани, что способствует увеличению мраморности мяса [6, 7].

Предрасположенность животных к стрессам имеет генетическую природу, затрагивающую галотановый локус, в нём расположен комплекс генов, кодирующих информацию о белках и ферментах, синтезирующихся в организме животного в ответ на действие различных стрессфакторов. Согласно данным научной литературы, одной из доминирующих причин снижения качества мяса является рост частот встречаемости подверженных стрессу животных, вызванному мутаци-

ей в гене RYR1. Также интенсивная селекция свиней на увеличение мясности туш приводит к снижению естественной резистентности и появлению стресс-синдрома, ассоциированного с геном RYR1, отрицательно влияющим на откормочную и мясную продуктивность [8].

Ген RYR1 свиней связан с чувствительностью/устойчивостью свиней к стрессам. Мутация в гене RYR1 происходит в результате замены нуклеотида С на Т в позиции 1843 и сопровождается изменением аминокислотной последовательности рианодин-рецепторного белка в положении 615 – аминокислота аргинин заменяется аминокислотой цистеин. Установлено, что данная точковая мутация обуславливает развитие у животных злокачественной гипертермии – наследуемого синдрома, проявляющегося как состояние острого гиперметаболизма скелетной мускулатуры с повышенным потреблением кислорода, накоплением лактата и продукцией большого количества углекислого газа и тепла [9].

Установлено, что частота встречаемости мутации в гене RYR1 зависит от породной принадлежности, популяции, линии и половозрастной группы и колеблется от 0 до 30 % у чистопородных животных.

**Цель наших исследований** – генотипирование свиней по генам H-FABP, RYR1 и изучение их полиморфизма.

**Материал и методика исследований.** Исследования проводились в 2015-2016 г.г. в лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». Базовыми хозяйствами были КСУП «Племенной завод «Ленино» и ОАО «СГЦ «Вихра» Могилёвской области. Объектом исследования для проведения молекулярно-генетического тестирования по генам H-FABP и RYR1 являлись свиньи белорусской чёрно-пёстрой породы (БЧП), общее количество ДНК-тестов – 565.

Для изучения полиморфизма генов H-FABP и RYR1 у исследуемых животных были взяты биопробы ткани, из которых выделена ДНК перхлоратным методом [10, 11].

Концентрацию и степень чистоты препаратов ДНК оценивали с использованием спектрофотометра GeneQuant 1300 (Healthcare).

Генотипирование свиней по генам H-FABP и RYR1 проводили методом ПЦР-ПДРФ, при этом использовали олигонуклеотидные праймеры следующих последовательностей:

- для аллельной системы H:

H-FABP F (H): 5' – AAG AGG ACC AAG ATG CCT ACG – 3'

H-FABP R (H): 5'– TGC TGT CCA CTA GCT TCC AGG – 3'

- для аллельной системы D:

H-FABP F (D): 5' – ATT CAG CTA CTC AGC TGT TTC C – 3'

H-FABP R (D): 5' – AAC AAA CTC TCA GGA ATG GGA G – 3'

- для гена RYR1:

RYR1 F: 5'-GTGCTGGATGTCCTGTGTTCCCT-3';  
 RYR1 R: 5'-CTGGTGACATAGTTGATGAGGTTTG-3'.

Аmplификацию фрагментов гена H-FABP (аллельные системы H и D) и гена RYR1 проводили в термоциклерах «DNA Engine Tetrad2» и «MJ Mini» («Bio-Rad», США), в реакционной смеси объёмом 25 мкл, содержащей 1хбуфер, 2 мМ dNTP, 20 пМ каждого праймера, 1-2 ед. акт. термостабильной Taq-полимеразы, 100-200 нг геномной ДНК.

Стандартные условия проведения ПЦР для гена H-FABP: начальная денатурация: 95 °С – 5 мин.; 35 циклов: денатурация при 95 °С – 1 мин., отжиг при 60 °С (аллельная система H) и 58 °С (аллельная система D) – 1 мин., синтез при 72 °С – 1 мин.; достройка при 72 °С – 5 мин.

Стандартные условия проведения ПЦР для гена RYR1: начальная денатурация: 94 °С – 5 мин.; 30 циклов: денатурация – 94 °С – 30 сек., отжиг – 60 °С – 30 сек., элонгация при 72 °С – 30 сек.; достройка при 72 °С – 5 мин.

Продукты ПЦР и рестрикционные фрагменты разделяли электрофоретическим методом. Амплификационные фрагменты расщепляли соответствующими рестриктазами: HinfI (ген H-FABP, аллельная система H), HaeIII (ген H-FABP, аллельная система D), Hin61 (ген RYR1). 10 мкл амплификата инкубировали с 10-15 ед. акт. фермента при температуре 37 °С в течение 3-5 часов. Визуализацию продуктов амплификации и рестрикционных фрагментов проводили с использованием компьютерной видеосистемы Infinity-3026 (Vilber Lourmat, Франция).

**Результаты эксперимента и их обсуждение.** В наших исследованиях полиморфизм гена H-FABP был выявлен методом ПЦР-ПДРФ. Изучена генетическая структура различных популяций свиней белорусской чёрно-пёстрой породы по гену H-FABP (аллельная система H) (таблица 1).

Таблица 1 – Генетическая структура по гену H-FABP (аллельная система H) популяций свиней белорусской чёрно-пёстрой породы

Хозяйство, половозрастная группа	Частота встречаемости				
	Генотипов, %			Аллелей	
	HH	Hh	hh	H	h
КСУП «П/з «Ленино», свиноматки, n=96	61,46	34,38	4,17	0,786	0,214
КСУП «П/з «Ленино», хряки-производители, n=68	73,53	25,00	1,47	0,860	0,140
ОАО СГЦ «Вихра», свиноматки, n=18	50,00	33,33	16,67	0,670	0,330
ОАО СГЦ «Вихра», хряки-производители, n=6	-	66,67	33,33	0,330	0,670
В среднем по породе: 188	62,77	31,91	5,32	0,790	0,210

В результате генетического тестирования установлены отличия встречаемости генотипа Н-FABP<sup>HH</sup> и аллеля Н-FABP<sup>H</sup> в зависимости от популяции и половозрастной группы. Выявлено, что частота встречаемости генотипа Н-FABP<sup>HH</sup> в популяции свиней из КСУП «П/з «Ленино»» изменялась в зависимости от половозрастной группы животных от 61,46 (свиноматки) до 73,53 % (хряки-производители), с концентрацией аллеля Н-FABP<sup>H</sup> – 0,786-0,860. Анализ популяций свиней из ОАО СГЦ «Вихра» показал, что концентрация генотипа Н-FABP<sup>HH</sup> и аллеля Н-FABP<sup>H</sup> варьировала от 0 % и 0,330 (хряки-производители), до 50,0 % и 0,670 (свиноматки) соответственно. Встречаемость животных с гетерозиготным генотипом Н-FABP<sup>Hh</sup> в популяциях хряков-производителей варьировала от 25,0 (КСУП «П/з «Ленино»») до 66,67 % (ОАО СГЦ «Вихра»). В среднем по белорусской чёрно-пёстрой породе частота встречаемости предпочтительного генотипа Н-FABP<sup>HH</sup> составила 62,77 % и аллеля Н-FABP<sup>H</sup> – 0,790. Возможно, на установленные отличия частот встречаемости предпочтительного гомозиготного генотипа Н-FABP<sup>HH</sup> и аллеля Н-FABP<sup>H</sup> в зависимости от половозрастной группы животных и популяции оказывает влияние направления селекции в изучаемых племенных хозяйствах.

Генетическая структура различных популяций свиней белорусской чёрно-пёстрой породы по гену Н-FABP (аллельная система D) представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Генетическая структура по гену Н-FABP (аллельная система D) популяций свиней белорусской чёрно-пёстрой породы

Хозяйство, половозрастная группа	Частота встречаемости				
	Генотипов, %			Аллелей	
	DD	Dd	dd	D	d
КСУП «П/з «Ленино», свиноматки, n=96	81,25	17,71	1,04	0,901	0,099
КСУП «П/з «Ленино», хряки-производители, n=68	83,82	16,18	-	0,919	0,081
ОАО СГЦ «Вихра», свиноматки, n=18	77,78	22,22	-	0,889	0,111
ОАО СГЦ «Вихра», хряки-производители, n=6	100	-	-	1	-
В среднем по породе: 188	82,45	17,02	0,53	0,91	0,09

Анализируя характер встречаемости генотипа Н-FABP<sup>dd</sup> в популяциях свиней белорусской чёрно-пёстрой породы, мы видим, что этот генотип и аллель Н-FABP<sup>d</sup> встречался только у свиноматок из КСУП «П/з «Ленино»» – 1,04 % и 0,099 соответственно. В остальных популяциях генотип Н-FABP<sup>dd</sup> не выявлен. Концентрация гетерозиготного генотипа Н-FABP<sup>Dd</sup> изменялась от 0 % (хряки-производители из ОАО

СГЦ «Вихра») до 22,22 % (свиноматки из ОАО СГЦ «Вихра»). В среднем по белорусской чёрно-пёстрой породе частота встречаемости предпочтительного генотипа Н-FABP<sup>dd</sup> и гетерозиготного генотипа Н-FABP<sup>Dd</sup> составила 0,53 и 17,02 % соответственно. Низкий процент встречаемости генотипа Н-FABP<sup>dd</sup> и аллеля Н-FABP<sup>d</sup> объясняется особенностями данной породы.

Скрининг гена RYR1 в популяциях хряков-производителей и свиноматок белорусской чёрно-пёстрой породы выявил полиморфизм, представленный двумя аллелями: RYR1<sup>N</sup> – без мутации, RYR1<sup>n</sup> – с точковой мутацией (таблица 3).

Таблица 3 – Генетическая структура по гену RYR1 популяций свиней белорусской чёрно-пёстрой породы

Хозяйство, половозрастная группа	Частота встречаемости				
	Генотипов, %			Аллелей	
	NN	Nn	nn	N	n
КСУП «П/з «Ленино», свиноматки, n=97	90,72	9,28	-	0,954	0,046
КСУП «П/з «Ленино», хряки-производители, n=68	94,12	5,88	-	0,971	0,029
ОАО СГЦ «Вихра», свиноматки, n=18	72,22	27,78	-	0,861	0,139
ОАО СГЦ «Вихра», хряки-производители, n=6	100	-	-	1	-
В среднем по породе: 189	90,48	9,52	-	0,952	0,048

Анализ полиморфизма гена RYR1 в белорусской чёрно-пёстрой породе свиней выявил изменчивость частот встречаемости генотипов и аллелей в зависимости от популяции и половозрастной группы животных.

В среднем по породе встречаемость животных, свободных от стресса (RYR1<sup>NN</sup>), составила 90,48 %, носителей мутантного аллеля (RYR1<sup>Nn</sup>) – 9,52 %, чувствительных к стрессу (RYR1<sup>nn</sup>) – 0 %. Наиболее высокой частотой встречаемости мутации в гене RYR1 характеризовалась популяция свиноматок из ОАО СГЦ «Вихра» – 27,78 %, наименьшей – популяция хряков-производителей из КСУП «П/з «Ленино» – 5,88 %.

Частота встречаемости животных, свободных от стресса (RYR1<sup>NN</sup>), варьировала от 72,22 % (свиноматки из ОАО СГЦ «Вихра») до 100 % (хряки-производители из ОАО СГЦ «Вихра»). Наибольшая концентрация предпочтительного генотипа RYR1<sup>NN</sup> наблюдалась у свиноматок и хряков-производителей из КСУП «П/з «Ленино» – 90,72 и 94,12 % соответственно.

Очевидно, что выявленный полиморфизм гена RYR1 у белорусской

чёрно-пёстрой породы не является постоянным и изменяется в зависимости от половозрастной группы животных, популяции, а также зависит от интенсивности и направленности отбора, направления селекции животных. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения ДНК-тестирования племенных животных белорусской чёрно-пёстрой породы.

Таким образом, в результате проведённых исследований установлены различия в частотах встречаемости генотипов и аллелей генов H-FABP и RYR1 в зависимости от популяции и половозрастной группы животных, что обусловлено различиями в направлении продуктивности свиней и интенсивности отбора на повышение показателей мясных признаков в отдельных популяциях.

**Заключение.** В процессе исследований изучена генетическая структура по генам H-FABP и RYR1 различных популяций и половозрастных групп свиней белорусской чёрно-пёстрой породы, разводимых в хозяйствах Республики Беларусь.

Анализ полиморфизма гена H-FABP (аллельная система H) выявил, что в популяции хряков-производителей из КСУП «П/з «Ленино» наблюдалось преобладание животных с генотипом H-FABP<sup>HH</sup> (73,53 %) над сверстниками генотипа H-FABP<sup>Hh</sup> (25,0 %). Редко встречающийся генотип H-FABP<sup>hh</sup> был выявлен у производителей – его частота составила 1,47 %.

Выявленный полиморфизм гена H-FABP (аллельная система D) показал, что наибольшей частотой встречаемости гетерозиготного генотипа H-FABP<sup>Dd</sup> характеризовались свиноматки из ОАО «СГЦ «Вихра» – 22,22 %, в среднем по породе этот показатель составил 17,02 %. Предпочтительный для селекции гомозиготный генотип H-FABP<sup>dd</sup> выявлен только у свиноматок из КСУП «П/з «Ленино» с уровнем встречаемости 1,04 %, в остальных популяциях данный генотип не выявлен.

Установлено, что концентрация аллеля RYR1<sup>N</sup> в среднем по белорусской чёрно-пёстрой породе составила 0,952 и колебалась в зависимости от популяции и половозрастной группы животных от 0,861 до 1. Частота встречаемости мутантного аллеля RYR1<sup>n</sup> составила 0-0,139, в среднем по породе этот показатель равен 0,048.

#### Литература

1. Калашникова, Л. А. Методы молекулярной генетики в животноводстве / Л. А. Калашникова // Селекция сельскохозяйственных животных на устойчивость к болезням и повышения естественной резистентности : сб. науч. тр. / ВНИИплем. – Москва, 1989. – С. 32-39.
2. Шейко, И. П. Генетические методы интенсификации селекционного процесса в свиноводстве : моногр. / И. П. Шейко, Т. И. Епишко ; Ин-т животноводства НАН Беларуси. – Жодино, 2006. – 197 с.
3. Калашникова, Л. А. ДНК-технологии оценки сельскохозяйственных животных / Л. А. Калашникова, Н. В. Рыжова // Вестник РАСХН. – 2000. – № 1. – С. 59.

4. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева [и др.]. – Дубровицы, 2002. – 136 с.
5. Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs / F. Gerbens [et al.] // J. Anim sci. Savoy, IL: American Society of Animal Science. – 2001. – Vol. 79, N 2. – P. 347-354.
6. A study of association of the H-FABP RFLP with Economic traits of Pigs / B. H. Choi [et al.] // Journal of Animal Science and Technology. – 2003. – Vol. 45, N 5. – P. 703-710.
7. A study of associations of the H-FABP genotypes with fat and meat production of pigs / T. Urban [et al.] // Czech Republic. Journal of Applied Genetics. – 2002. – Vol. 43, N 4. – P. 505-509.
8. Фролкин, Д. А. Скрининг гена злокачественной гипертермического синдрома (MHS) - гена у свиней : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 03.00.23 / Фролкин Д.А. – Дубровицы, 2000. – 19 с.
9. Рыжова, Н. В. Частота встречаемости мутантного аллеля RYR1-гена в популяциях свиней крупной белой породы / Н. В. Рыжова, Л. А. Калашникова, А. А. Новиков // Доклады РАСХН. – 2001. – № 6. – С. 31-35.
10. Методические рекомендации по применению ДНК-тестирования в животноводстве Беларуси / И. П. Шейко [и др.]. – Жодино, 2006. – 26 с.
11. Зиновьева, Н. А. Молекулярно-генетические маркеры в животноводстве / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь // Биотехнология сельскохозяйственных животных. – СПб-Дубровицы, 2002. – С. 52-56.

Поступила 15.03.2018 г.

УДК 636.223.1(282.247.322)

В.И. ЛЕТКЕВИЧ, С.В. СИДУНОВ, Р.В. ЛОБАН, А.А. КОЗЫРЬ,  
М.Н. СИДУНОВА

## **РОСТ, РАЗВИТИЕ И МЯСНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ МОЛОДНЯКА АБЕРДИН-АНГУССКОЙ ПОРОДЫ**

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук  
Беларуси по животноводству»

Исследования, проведённые на молодняке абердин-ангусской породы, показали, что тело бычков по сравнению с тёлками более растянутое, с хорошо развитой грудью и задней частью туловища. Животные хорошо сложены, у них достаточно ярко выражены мясные формы. При этом по индексу растянутости бычки на 8,0 п. п. достоверно превосходили тёлку, по индексу массивности преимущество составило 5,2. Интенсивность роста бычков при выращивании от 7- до 15-месячного возраста была 1020 г, а от 7 до 17 месяцев – 1095 г. Средняя предубойная живая масса бычков составила 513,7 кг, при этом убойная масса варьировала от 281,6 до 288,1 кг. Масса внутреннего жира у подопытных бычков была минимальной – 5,6 кг, что в среднем составило 1,1 % от убойной массы. Отмечались высокий убойный выход (55,5 %) и выход туши (54,5 %). Коэффициент мясности составил 4,54 ед.

**Ключевые слова:** абердин-ангусская порода, бычки, тёлки, живая масса, промеры, индексы телосложения, убойный выход, коэффициент мясности.