

## **ДИАГНОСТИКА СТРЕССЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СВИНЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КОМБИНАЦИЯХ СКРЕЩИВАНИЙ ПО ГЕНУ RYR1**

М.Е. МИХАЙЛОВА, кандидат биологических наук  
Н.И. ТИХАНОВИЧ, Н.А. КАМЫШ, Н.М. ВОЛЧОК  
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»  
В.И. БЕЗЗУБОВ, доктор сельскохозяйственных наук  
И.И. ПЕРАШВИЛИ  
РУП «Институт животноводства НАН Беларуси»  
Г.И. АНКУДОВИЧ  
КУСХП «Северный», Витебской обл.  
В.А. ДВОРНИК  
РУП «С/к «Заря», Гомельской обл.

Реферат. На свинополовье ряда комплексов республики, полученном в результате различных комбинаций скрещивания мясных и универсальных пород, изучен результат полиморфизма гена рианодинового рецептора Ryr1, аллель N которого обуславливает нечувствительность свиней к стрессу.

Ключевые слова: генотип, аллель гена Ryr1, ПЦР-ПДРФ, стрессчувствительность.

**Введение.** Применение генетических маркеров в качестве дополнительных критериев при отборе и подборе племенных свиней при чистопородном разведении и межпородном скрещивании способствует ускорению селекционного процесса и повышению его эффективности. Разработка новых методов молекулярно-генетического анализа предоставляет практическую возможность использования ДНК-маркеров в селекции животных для определения их генетического потенциала. Использование ДНК-маркеров в селекционной практике различных отраслей животноводства было начато сравнительно недавно. В России такие работы проводятся последние 10 лет, в Беларуси разработка данной проблемы только начинается.

На современном этапе выполнен анализ распределения аллельных вариантов ряда структурных генов, полиморфизм которых часто оказывается связанным с продуктивными качествами животных. Известны гены, связанные с сельскохозяйственными признаками продуктивности свиней: ген H-FABP – контролирует признак содержания внутримышечного жира; ген эстрогенового рецептора (ER) – признак плодовитости, ген E. coli рецептора (E. coli F18) – признак чувствительности поросят к диарее, вызываемой кишечной палочкой; ген рианодинового рецептора (Ryr1) – признак злокачественного гипертермического синдрома и др. [1]. Генная диагностика на стрессчувствитель-

ность свиней была предложена Б. Бренингом и Г. Бремом [7].

В свиноводстве республики основным направлением развития является не только повышение откормочных качеств, но и повышение мясности животных и улучшение качества свинины. При выведении новых мясных типов свиней используется генофонд отечественных (белорусская мясная) и зарубежных супермясных пород (пьетрен, ландрас, дюрок и т. д.). Установлено, что селекция на мясность сопровождается определёнными негативными последствиями. В популяции свиней новых мясных пород постоянно присутствует некоторый процент животных, сочетающих в себе хорошие мясные кондиции с недостаточно высокими технологическими характеристиками мяса [2]. Исследования показали, что животные с хорошими мясными кондициями и высокой долей мяса в туше имели повышенную чувствительность к стрессам [3, 4].

Обнаружено, что предрасположенность свиней к стрессам имеет генетическую природу, затрагивающую галотановый локус. Ryr-ген занимает позицию на хромосоме 6 между 6p12 и 6q22 [8]. Исследования галотанового локуса с помощью методов молекулярной биологии позволили выявить точковую мутацию в рианодин-рецепторном гене (Ryr1). Ген рецептора рианодина скелетных мышц отвечает за синтез рианодин-рецепторного белка, который находится в саркоплазматическом ретикулуме мышечного волокна. Точковая мутация в гене Ryr1 в позиции 1843, заменяющая цитозин на тимин, приводит к замене аргинина на цистеин в позиции 615 рианодин-рецепторного белка [6]. Это ведет к нарушению основной функции белка – регуляции концентраций ионов кальция в цитоплазме, то есть точковая мутация в гене Ryr1 вызывает ряд биохимических изменений, приводящих к некоторому ухудшению качества мяса.

Использование в промышленном свиноводстве различных отечественных и зарубежных мясных пород привело к необходимости изучения полиморфизма известных генов. Целью наших исследований было изучение полиморфизма гена рианодинового рецептора (Ryr1) в популяциях свиней, полученных при различных комбинациях скрещивания животных мясных пород ландрас и дюрок с свиньями крупной белой, эстонской беконной и белорусской чёрно-пёстрой.

**Материал и методика исследований.** Объектом исследования являются животные свиноводческих комплексов РУСПП «Борисовский» Минской, КУСП «Северный» Витебской, РУП «С/к «Заря» Гомельской областей. Производственная мощность этих предприятий без племферм составляет соответственно 108, 54 и 54 тыс. голов.

ДНК из пробы ткани уха животных выделяли фенольнохлороформным методом [2]. ДНК генома свиней исследуются по полиморфизму длин рестриктных фрагментов (ПДРФ) методом амплификации с

помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для амплификации фрагмента гена *Ryг1*, содержащего мутацию, использовали праймеры:

RYR - 56/1 : 5'- GTGCTGGATGTCCTGTGTTCCCT - 3'

RYR - 56/2 : 5'- CTGGTGACATAGTTGATGAGGTTTG - 3'

ПЦР проводили в конечном объеме 25 мкл в следующем режиме: «горячий старт» – 94°C (6 мин.), денатурация – 94°C (1 мин.), отжиг – 60°C (1 мин.), элонгация – 72°C (1 мин.). С целью повышения выхода амплификата после завершения 30 циклов реакции было продлено время экспозиции при температуре 72°C до 5 минут для достройки полинуклеотидных цепей Tag-полимеразой.

Амплификаты подвергались рестрикции эндонуклеазой *HspA 1*. Рестриктаза разделяет исследуемую ДНК на определенное количество фрагментов фиксированной длины. Полученные продукты, в свою очередь, разделяли в 2%-ом агарозном геле. Если рестриктаза относительно маркера разрезает ДНК на два фрагмента длиной 84 и 50 пн, то мутация отсутствует. Следовательно, анализируемое животное является стрессустойчивым (генотип NN). Если в следствие точковой мутации в структуре ДНК происходят изменения, например, замена одного основания на другое, и при этом исчезает сайт узнавания для рестриктазы, то на электрофореграмме проявляется одна яркая полоска длиной 134 пн, а анализируемое животное относится к стрессчувствительным (генотип nn). У гетерозиготной особи (Nn) в генотипе присутствует два аллеля – нормальный аллель (N) и аллель, повреждённый мутацией (n). В этом случае на электрофореграмме гетерозигота имеет три полосы длиной 134, 84 и 50 пн.

Таблица 1

Частота генотипов и частота аллелей в популяциях свиней при различных сочетаниях скрещиваний

Хозяйство	Комбинация скрещиваний	Кол-во голов	Частота встречаемости генотипов, %			Частота аллелей	
			NN	Nn	nn	N	n
КУСП «Северный», Витебской обл.	КБхКБ	3	100	-	-	1,0	-
	КБхЭБ	4	66,7	33,3	-	0,83	0,17
	КБхЭБхБЧП	4	75,0	25,0	-	0,88	0,12
	КБхЭБхДхБЧП	3	100	-	-	1,0	-
РУП «С/к «Заря», Гомельской обл.	КБхЛхЭБ	4	75,0	25,0	-	0,88	0,12
	КБхЛхЭБ	7	100	-	-	1,0	-
	ЭбхДхКБхЭБ	8	100	-	-	1,0	-
	БМх БЧПх ЭБхЛ	9	100	-	-	1,0	-
РУСПП «Борисовский», Минской обл.	КБхЭБхБМхБЧП	7	100	-	-	1,0	-
	КБхБЧПхЭБ	18	100	-	-	1,0	-
	КБхЛхЭБ	27	100	-	-	1,0	-

Условные сокращения: КБ – крупная белая, ЭБ – эстонская беконная, Д – дюрок, БЧП – белорусская чёрно-пёстрая, Л – ландрас.

Анализ животных исследуемых хозяйств на стрессчувствительность по генотипам (NN, Nn, nn) и частота встречаемости мутантного n-аллеля Rуг-гена представлена в табл. 1.

Установлено, что в хозяйствах РУП «С/к «Заря» Гомельской и РУСПП «С/к «Борисовский» Минской областей, где используются вышеуказанные комбинации скрещиваний свиней, все обследованные животные обладали стрессустойчивыми генотипами. Полиморфизм животных по Rуг-гену в этих хозяйствах не обнаружен.

Интересные данные получены по хозяйству «Северный» Витебской области. Исследуемые чистопородные особи крупной белой породы являются устойчивыми к стрессу (генотип NN). Анализ животных с различным сочетанием скрещиваний показал, что у свиней с комбинацией скрещивания крупная белая х эстонская беконная х дюрок х белорусская чёрно-пёстрая не выявлен мутантный n-аллель Rуг-гена.

Особь имеют генотип NN и являются устойчивыми к стрессу. В то же время в сочетании скрещивания крупная белая х эстонская беконная выявлен довольно высокий уровень встречаемости мутантного n-аллеля Rуг-гена, частота равна 0,17. При скрещиваниях: крупная белая х эстонская беконная х белорусская чёрно-пёстрая и крупная белая х эстонская беконная х дюрок частота встречаемости n-аллеля Rуг-гена равна 0,12.

Проведённое ДНК-тестирование гибридных свиней, полученных при различных сочетаниях скрещивания, с использованием таких пород как крупная белая, эстонская беконная, дюрок, белорусская чёрно-пёстрая, показало возможность присутствия мутантного аллеля Rуг-гена у стрессчувствительного ремонтного молодняка.

Таким образом, у гибридных животных, полученных при различных комбинациях скрещиваний с использованием мясных пород свиней, обнаружен мутантный аллель Rуг-гена, который определяет устойчивость свиней к стрессу, что согласуется с данными, полученными И.П. Шейко, Т.И. Епишко, Р.И. Шейко и др. [5].

**Выводы.** При подборе родительских пар животных для чистопородного разведения и межпородного скрещивания целесообразно проводить ДНК-тестирование животных путём выявления носителей мутантного гена с целью исключения перехода рецессивного мутантного n- аллеля Rуг-гена в следующих поколениях в гомозиготное состояние (nn-генотип).

Использование ДНК-диагностики в селекции свиней способствует направленному разведению предпочтительных генотипов, ускорению селекции свиней по воспроизводительным, откормочным и мясным качествам.

#### Литература

1. Зиновьева, Н.А. Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных / Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь // Материалы международной научной конференции. – Дубровицы, 2002. – С. 44.
2. ДНК-технология оценки сельскохозяйственных животных / Л.А. Калашникова [и др.]. – ВНИИплем, 1999. – 148 с.
3. Максимов, Г.В. // Сельскохозяйственная биология. – 1995. – № 2. – С. 13-33.
4. Плященко, С.И. Стрессы у сельскохозяйственных животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров. – М., 1987. – 230 с.
5. Детерминация продуктивности свиней белорусской мясной породы, обусловленная геном RYR1 / И.П. Шейко [и др.] // Молекулярная генетика, геномика и биотехнология: Материалы Междунар. науч. конф. – Мн., 2004. – С. 277-278.
6. Fujii J. et. al. // Science. – 1991. – <sup>1</sup> 253. – P. 448-451.
7. Brening, B. Genomic organization and analysis of the 5' end of the porcine ryanodine receptor gene (ryr1) / B. Brening, G. Brem // FEBS letters. – 1992. – Vol. 298. – P. 277-279.
8. Brening, B., Jurs, S., Brem, G. // Nucl. Acids Res. – 1990. – Vol. 18. – P. 388.

УДК 636.4.082.265

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЯСНЫХ КАЧЕСТВ ЧИСТОПОРОДНОГО И ПОМЕСНОГО МОЛОДНЯКА, ПОЛУЧЕННОГО С УЧАСТИЕМ ХРЯКОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ МЯСНЫХ ПОРОД

И.С. ПЕТРУШКО, кандидат сельскохозяйственных наук  
Н.М. ХРАМЧЕНКО, кандидат сельскохозяйственных наук  
И.А. ЕРАХОВЕЦ  
РУП «Институт животноводства НАН Беларуси»

Реферат. Использование хряков породы пьетрен на заключительном этапе трёхпородного скрещивания в сочетании с помесными свиноматками крупная белая × белорусская мясная позволяет получать туши с содержанием мяса до 69 %. При этом показатели качества свинины находятся в пределах нормы.

Использование хряков породы дюрюк на заключительном этапе трёхпородного скрещивания способствует увеличению содержания жира в мясе на 0,58-1,96 %, что обеспечивает его высокие вкусовые качества.

Ключевые слова: гибриды, скрещивание, физико-химические свойства мышечной и жировой ткани.

**Введение.** Одним из путей увеличения свинины является применение в системе гибридизации хряков специализированных мясных пород. Это позволяет быстро и эффективно обеспечить эффект гетерозиса и повысить мясную продуктивность животных.

Однако использование животных в условиях промышленной технологии и интенсивная селекция на мясность, которая привела к созданию супермясных пород свиней (пьетрен, датский, бельгийский и голландский ландрас и др.), снизили их резистентность к стрессу и