Ассоциация полиморфизма гена RYR1 с показателями продуктивных качеств свиней пород, разводимых в Беларуси

Пестис Витольд Казимирович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ректор;
Ольга Александровна Епишко, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент;
Танана Людмила Александровна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Гродненский государственный аграрный университет (Беларусь)

Шейко Руслан Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, доцент Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству

Association of Polymorphism Gene RYR1 with Productive Qaulities Traits of the Breed Pigs Bred in Belarus

Целью наших исследований является выявить ассоциацию гена RYR1 с воспроизводительной функцией, откормочной и мясной продуктивностью животных различных пород и породных сочетаний и возможность использования гена RYR1 в качестве маркера для селекции свиней на устойчивость к стрессу.

Ключевые слова: свиньи, ген рианодинового рецептора, полиморфизм, аллель, генотип, ПЦР-ПДРФ, ДНК, продуктивные признаки.

Aim of the research is to reveal association of a gene of RYR1 with reproductive function, feeding and meat efficiency of animal various breeds and pedigree combinations and possibility of use of a gene of RYR1 in quality of a marker for selection of pigs on resistance to a stress.

Keywords: pigs, RYR1 gene, polymorphism, allele, genotype, PCR-RFLP, DNA, productive traits.

Введение

При интенсивной селекции на мясность и растущей популярности пород, применяемых для улучшения мясных качеств отечественных пород и получения товарных гибридов, отмечается значительное увеличение частоты встречаемости предрасположенных и чувствительных к стрессу животных среди племенных и помесных свиней, разводимых в Республике Беларусь (от 7 до 100%), вследствие чего наблюдается повышенный отход поросят, снижение откормочной и мясной продуктивности, а также качества свинины.

Синдром стресса свиней PSS (Porsine Stress Syndrome), проявляющийся в смертности стрессируемых животных, биохимических изменениях в скелетной мускулатуре свиней после убоя (в виде патологически бледной, водянистой, мягкой свинины — PSE или, наоборот, темной, сухой, жесткой свинины — DFD) и чувствительности к индуцируемой стрессом злокачественной гипертермии MHS (Malignant Hypertermia Syndrome) является одной из важнейших проблем современного мясного свиноводства [1, 2].

Чувствительные к стрессу свиньи характеризуются более низким уровнем репродуктивных и откормочных качеств. В то же время, известно, что стрессчувствительные свиньи-носители злокачественной гипертермии — отличаются более высокой мясностью туш. В связи с чем, задачей наших исследований является изучение ассоциации полиморфизма гена RYR1 с показателями продуктивных качеств свиней пород, разводимых в Беларуси.

Материалы и методы

Исследования проводились в научно-исследовательской лаборатории ДНК-технологий УО «ГГАУ» и РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству». Объектом исследований являлись свиноматки белорусской крупной белой, белорусской мясной пород, чистопородный и помесный молодняк, ремонтные хряки белорусской крупной белой и белорусской мясной пород. В исследуемой группе свиноматок с различными генотипами по гену RYR1 изучали следующие репродуктивные качества: многоплодие (гол), масса гнезда при рождении (кг), молочность (кг), масса гнезда при отъеме (кг), и др. В группе откормочного молодняка определяли возраст достижения живой массы 100 кг (дней), среднесуточный прирост (г) и затраты корма на 1 кг прироста живой массы (к.ед). У ремонтных хряков белорусской крупной белой и белорусской мясной пород изучали показатели собственной продуктивности: скорость роста (дней), толщина шпика (мм). Условия содержания и кормления подопытных животных были одинаковыми. В процессе работы методом ПЦР-ПДРФ анализа исследован полиморфизм гена RYR1. ДНК экстрагировали из проб ткани уха животного перхлоратным методом. Для амплификации участка генов RYR1 использовали праймеры: RYR1: — GTG CTG GAT GTC CTG TGT TCC CT - 3', RYR2: - CTG GTG ACA TAG TTG ATGAGG TTT G -3'.

ПЦР программа: «горячий старт» — 4 мин при 94° С; 30 циклов: денатурация — 30 сек при 94° С, отжиг — 30

сек при 60° С, синтез — 30 сек при 72° С; достройка — 5 минут при 72° С.

Амплификацию гена RYR1 проводили с использованием реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащая 1хТаq-буфер, 2 мМ дНТФ (4 х 0,5 мМ каждого), 10 пМ каждого праймера, 1,5 ед. акт. Таq-полимеразы, 100-200 нг геномной ДНК.

Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 2% агарозном геле. В качестве маркера молекулярного веса использовали 50 bp DNA Ladder, расщепленную рестриктазами. Длина фрагмента гена RYR1-134 п.о.

Оптимизированы параметры проведения рестрикции. Для рестрикции амплифицированного участка гена RYR1 использовали эндонуклеазу HhaI. Продукты рестрикции гена RYR1 разделяли электрофоретически в 4% агарозном геле.

Результаты и их обсуждение

Поскольку стрессустойчивые животные характеризуются более высокими репродуктивными качествами в сравнении с чувствительными и предрасположенными к стрессу, даже невысокая частота встречаемости рецессивного аллеля RYR1ⁿ в масштабах промышленного производства приводит к значительному экономическому ущербу отрасли свиноводства, так как является существенной причиной более низкой сохранности молодняка (Таблица 1).

У свиноматок крупной белой породы с генотипом RYR1^{Nn} на 1,11 голов (P<0,05) рождалось больше живых поросят при более высокой массе гнезда при рождении (на 2,51кг (P<0,001). В то же время, сохранность поросят была ниже, чем у маток с генотипом RYR1^{NN} (на 25,8%), кроме того, у них был увеличен удельный вес мертворожденных поросят (на 3,2%) и количество аварийных опо-

росов (на 5,4%). Энергия роста молодняка и сохранность к 21 дню были выше у устойчивых к стрессу животных с достоверным преимуществом (P<0,001).

Более высокое многоплодие наблюдалось у маток белорусской крупной белой породы с генотипом RYR1^{Nn} в сравнении с доминантными гомозиготами RYR1^{Nn} что, по-видимому, связано с большей жизнеспособностью гетерозигот, которая проявляется при благоприятном действии модификационных факторов и является характерной особенностью материнских пород. Однако, несмотря на полученные нами достоверные различия между генотипами, выявленная закономерность требует дальнейшего изучения не только у маток белорусской крупной породы.

У белорусской мясной породы устойчивые к стрессу матки имели преимущество по многоплодию на 8.8% (P<0,05), в том числе по количеству живых поросят — на 11.1% (P<0,01) и массе гнезда при рождении — на 11% (P<0,01) (Таблица 2).

У маток с гетерозиготным генотипом RYR1 $^{\rm Nn}$ на 2,5 п.п. больше рождалось мертворожденных поросят, и на 3,4 п.п. выше был процент аварийных опоросов. Очевидно более высокая сохранность поросят и незначительное (p>0,05) превышение показателей развития поросят (массы гнезда в 21 день и при отъеме) у маток с генотипом RYR1 $^{\rm Nn}$ наблюдается за счет технологической подсадки.

Полученные нами данные показали, что устойчивые к стрессам матки имели выше (на $15\,\mathrm{n.n.}$) оплодотворяемость, многоплодие (на $0.6\,\mathrm{nopocenka}$), живую массу поросенка при отъеме (на $1.1\,\mathrm{kr}$), и сохранность поросят (на $10.2\,\mathrm{n.n.}$).

Результаты наших исследований свидетельствуют о неблагоприятном влиянии RYR1-гена на репродуктивные качества свиноматок, жизнеспособность и сохранность поросят.

Таблица 1. Показатели репродуктивных качеств свиноматок белорусской крупной белой поро	ДЫ
с различными генотипами по гену RYR1	

Признаки	Геноти	Генотип RYR1		
•	NN	Nn	_ Разница Nn	
Родилось поросят всего, гол.	12,87±0,24	14,50±1,50	-1,63	
в т.ч. живых, гол.	12,39±0,23	13,50±0,50	-1,11*	
Масса гнезда при рождении, кг	17,32±0,32	19,55±1,05	-2,23*	
Количество поросят в 21 день, гол.	10,01±0,09	7,50±0,50	+2,51***	
Молочность, кг	62,78±0,73	46,50±1,50	+1628***	
Количество поросят при отъеме, гол.	10,08±0,28	7,50±0,50	+2,58***	
Масса гнезда при отъеме в 2 мес., кг	187,70±3,60	147,96±2,05	+39,74***	
Сохранность поросят,%	81,4	55,6	25,8	
Процент мертворожденных поросят,%	3,7	6,9	-3,2	
Процент аварийных опоросов,%	23,2	28,6	-5,4	

Примечание: здесь и далее — уровень достоверности при * — P<0,05, ** — P<0,01, *** — P<0,001

Признаки	Генот	Генотип RYR1		
признаки	NN	Nn	- Разница Nn	
Родилось поросят всего, гол.	12,18±0,25	11,11±0,35	+1,07*	
в т.ч. живых, гол.	11,69±0,24	10,39±0,40	+1,30**	
Масса гнезда при рождении, кг	17,15±0,30	15,26±0,57	+1,89**	
Количество поросят в 21 день, гол.	9,86±0,09	10,10±0,14	-0,24	
Молочность, кг	55,79±0,81	58,62±1,37	-2,83	
Количество поросят при отъеме, гол.	9,85±0,09	10,12±0,14	-0,27	
Масса гнезда при отъеме в 2 мес., кг	169,6±2,73	177,46±3,79	-7,86	
Сохранность поросят,%	80,9	91,1	-10,2	
Процент мертворожденных поросят,%	4,0	6,5	-2,5	
Процент аварийных опоросов,%	16,6	20,0	-3,4	

Таблица 2. Показатели репродуктивных качеств свиноматок белорусской мясной породы с различными генотипами по гену RYR1

В проведенных ранее исследованиях, молодняк с гомозиготным генотипом RYR1^{NN} характеризовался более высокой скоростью (179,1 дня) и энергией роста (732,4 г; P<0,01), низкими затратами корма на 1 кг прироста (3,64 к. ед.; P<0,05), а также более длинной тушей (98,9 см; P<0,01) и тонким шпиком (25,2 мм), что значительно превышало аналогичные показатели животных с генотипом RYR1^{Nn} (соответственно на 3,5 дней, или 1,9%; 33,1 г — 4,7%; 0,14 к. ед.— 3,7%; 1,3 см — 1,3%; 2,4 мм — 8,7%).

Достоверных различий между генотипами $RYR1^{NN}$ и $RYR1^{Nn}$ по величине показателей площадь «мышечного глазка» и масса окорока не установлено. Выявлено также, что животные, характеризующиеся предрасположенностью к стрессам, имели более высокое содержание мяса в тушах. Результаты обвалки полутуш показали, что у гетерозиготных животных $RYR1^{Nn}$ количество мяса на 9,1% было выше, чем у гомозиготных $RYR1^{Nn}$, с одновременно более высоким содержанием сала (на 10%)[3, 4, 5, 6, 7, 8].

Полученные нами данные согласуются с результатами исследований E. Krzęcio, F. Zhang et al., которые реко-

мендует получать гетерозиготные RYR1 $^{\rm Nn}$ генотипы, что ведет к повышению мясности туш в сравнении с тушами животных, устойчивых к стрессу RYR1 $^{\rm NN}$, но у них реже, чем у гомозигот RYR $^{\rm nn}$, встречается мясо с пороком PSE. По данным Т. Hardge et al. [9], влияние RYR1-генотипа на признаки туши составляет от 3,5 до 27%, на критерии качества мяса — до 60%, на прирост живой массы — до 10%.

Широкое использование в селекционном процессе животных мясных пород ландрас и пьетрен зарубежной селекции привело к увеличению концентрации аллеля RYR1^п у гибридного молодняка, полученного при сочетании свиней белорусских пород с вышеназванными зарубежными, что может оказать негативное влияние на проявление откормочной и мясной продуктивности (Таблица 3).

В результате проведенных исследований выявлено положительное влияние генотипа NN по RYR1 на проявление откормочной продуктивности, как помесного, так и чистопородного молодняка белорусской черно-пестрой и крупной белой пород [10]. Так, у гетерозиготного молод-

Таблица 3. Влияние полиморфизма гена RYR1 на показатели откормочной продуктивности чистопородного
и помесного молодняка

Порода и породные сочетания	n	Генотип	Возраст достижения 100 кг, дней	Среднесуточный прирост, г	Затраты корма на 1 кг прироста, к. ед.
БЧП	21	NN	187,7±1,24	702±11	3,61±0,06
	11	Nn	190,6±1,00	707±9	3,60±0.03
3/4БЧП 1/4Л	13	NN	185,3±1,28	733±1***	3,53±0,05**
	3	Nn	188,5±3,50	676±0	3,72±0,01
3/4БЧП 1/4П	3	NN	185,3±2,60	761±13 [*]	3,36±0,02**
	14	Nn	186,2±1,40	710±12	3,57±0,05
3/4КБП 1/4Л	10	NN	187,3±1,09	722±8	3,51±0,05
	2	Nn	188,5±2,60	699±26	3,61±0,11

няка наблюдается снижение скорости роста на 0.8-2.9 дня, энергии роста — на 51г (P<0.05) — 59 (P<0.001) г и увеличение затрат корма на 0.19-0.21 (P<0.01) к. ед.

Помесный молодняк белорусской черно-пестрой породы с кровностью 25% породы ландрас, свободный от точковой мутации злокачественной гипертермии, превосходил животных генотипа RYR1^{Nn} по откормочной продуктивности на 8,4-5,1% (P<0,01). У гибридного молодняка с кровностью 25% породы пьетрен превосходство по энергии роста и расходу корма на единицу прироста составило 7% (P<0,05) и 5,9% (P<0,01) соответственно, а по мясным показателям — 0,3-7,1%.

Изучая показатели мясной продуктивности свиноматок, в том числе и двухпородный молодняк, полученный от скрещивания гибридных хряков генотипа 1/2БКБ1/2Л и свиноматок крупной белой породы, свободной от мутации в гене RYR1, характеризовался высокими откормочными качествами, но уступал в мясности помесям с RYR1 $^{\rm Nn}$ генотипом по толщине шпика над 6-7 грудными позвонками на 5% и площади «мышечного глазка» — на 0.9%, однако эти различия находятся в пределах статистической ошибки.

Таким образом, в наших исследованиях выявлено достоверное снижение показателей откормочной продуктивности животных-носителей рецессивного аллеля RYR1ⁿ, что свидетельствует о необходимости проведения обязательного генетического контроля его наличия и распространения у отечественного и импортируемого поголовья животных.

Необходимо отметить, что при соблюдении оптимальных норм технологии кормления и содержания животных можно снизить воздействие стресса и избежать негативного воздействия злокачественной гипертермии.

Также нами изучено влияние полиморфизма гена RYR1 на показатели собственной продуктивности ре-

монтных хрячков белорусской крупной белой и белорусской мясной пород, в результате чего установлена тенденция к снижению показателей скорости роста (на 3 дня) и толщины шпика (на 1,3 мм) у животных крупной белой породы с гетерозиготным генотипом $RYR1^{Nn}$ по сравнению с гомозиготными сверстниками, однако ввиду наличия оптимальных норм кормления и содержания, снижающих стрессовую нагрузку, достоверных различий не обнаружено.

Анализ полученных нами данных позволяет сделать вывод, что наличие мутации в гене RYR1 является признаком физиологической нестабильности животного. Именно к такой нестабильности приводит односторонняя селекция животных на повышение мясности без учета других хозяйственно полезных признаков (конституциональная крепость, высокая жизнеспособность и т.д.). В результате такой селекции созданы супермясные породы и типы свиней (пьетрен, бельгийский и немецкий ландрас и другие), использование которых способствует снижению резистентности животных к стрессу и ухудшению качества мяса, появлению пороков мяса PSE и DFD, что снижает его технологические свойства. Свинина от животных с такими пороками имеет непривлекательный вид, непригодна для употребления в свежем виде, для технологической переработки и производства копченых продуктов. Только в Швеции [11] от PSE-синдрома ежегодный экономический ущерб составляет более 50 млн. шведских крон, в Англии — 800 тыс. ф. ст., в США — 250млн. долларов.

Выводы. Выявленные ассоциации гена RYR1 воспроизводительной функцией, откормочной и мясной продуктивностью животных различных пород и породных сочетаний свидетельствуют о возможности использования гена RYR1 в качестве маркера для селекции свиней на устойчивость к стрессу.

Литература:

- 1. Князев, С. П. Проблемы дискордантности и косегрегации экспрессии галотан-чувствительности свиней с мутацией 1843 С-Т в локусе RYR1 рецептора рианодина / С. П. Князев, К. Е. Жучаев, В. В. Гарт // Генетика. 1998. Т. 34, № 12. с. 1648-1654.
- 2. Марзанов, Н.С. RYR1-ген у свиней отечественных и зарубежных пород / Н.С. Марзанов, Д.А. Фролкин, Н.А. Зиновьева // Доклады Российской Академии сельскохозяйственных наук. 2001. № 1. с. 34—36.
- 3. Детерминация продуктивности свиней белорусской мясной породы, обусловленная геном RYR1 / И.П. Шейко [и др.] // Молекулярная генетика, геномика и биотехнология: материалы конф., г. Минск, 24—26 нояб. 2004 г. Мн., 2004. с. 277—278.
- 4. Епишко, Т.И. Влияние полиморфизма гена RYR1 на механизмы физиологической реактивности организма свиней / Т.И. Епишко // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. 2005. № 1. с. 49—54.
- 5. Епишко, Т. И. Генетические основы породообразования / Т. И. Епишко // Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр. Т. 42. Жодино, 2007. с. 57—66.
- 6. Полиморфизм гена RYR1 в популяции белорусской мясной породы свиней и его ассоциация с процессами метаболизма и продуктивными качествами / И. П. Шейко [и др.] // Доклады РАСХН. — 2004. — № 5. — с. 30—32.
- 7. 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.
- 8. Polymorphism of gene RYR1 in a Belarus meat-type pig and its association with metabolic processes and productive qualities // Russian Agricultural Sciences. 2005. N 9. P. 21–24.

- 9. Hardge, T. / T. Hardge, A. Scholz // Faculty of Agriculture and Hortculture, Institute of Basic Animal Science. Berlin, 2001. P. 320–325.
- 10. Использование ДНК-технологий при определении стрессовой чувствительности и продуктивности свиней / И.П. Шейко [и др.] // Вести НАН Беларуси. Сер. аграрных наук. 2005. № 3. с. 76–78.
- 11. Сердюк, Г.Н. Иммуногенетические маркеры и их использование для повышения эффективности селекции свиней: автореф. дис. д-ра биол. наук: 03.00.15 / Сердюк Г.Н.— СПб-Пушкин, 2000.— 58 с.

Убойные и мясные качества абердин-ангусских бычков разных весовых кондиций

Петрушко Игорь Сергеевич, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, заместитель генерального директора, руководитель группы по разведению и селекции мясного скота;

Лобан Раиса Владимировна, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник;

Сидунов С. В.; Леткевич В. И.; Козырь А. А.

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству»
Булыго М. М.
РСУП «Агро-Лясковичи» (Гомельская обл., Беларусь)

Установлено, что откорм абердин-ангусских бычков до более высоких весовых кондиций, позволяет получить полномясные тяжелые туши с содержанием мякоти в туше свыше 80% и выходом на 1 кг костей 4,9—5 кг мякоти. Сравнительная оценка убойных показателей и показателей качества туш показала, что для получения большего количества высокоценной мясной продукции убой животных следует проводить в более поздние возрастные периоды.

Введение

Известно, что на формирование мясной продуктивности оказывают влияние такие факторы, как порода, возраст, пол, условия кормления и содержания животных. Как свидетельствуют многочисленные исследования, и показывает практика, о мясной продуктивности животных при жизни можно судить по их экстерьеру и живой массе, однако прижизненное определение мясных качеств дает возможность лишь предварительно оценивать животных по мясной продуктивности. Поэтому полное представление о мясной продуктивности можно получить лишь после изучения показателей убойных качеств, т.е. мясную продуктивность крупного рогатого скота устанавливают по массе животного, массе туши, убойному выходу, качеству туши, которые получают при убое животных. При этом значительное влияние на морфологический состав туш оказывает интенсивность выращивания и откорма животных, при этом не менее важное значение имеют их упитанность и возраст [1, 2].

Материал и методика исследований

Для изучения мясной продуктивности бычков абердин-ангусской породы, нами в РСУП «Агро-Лясковичи» Петриковского района Гомельской области были сфор-

мированы 3 группы бычков по 14 голов в каждой. До семимесячного возраста молодняк находился на подсосе под матерями в условиях пойменных пастбищ Припятского Полесья. После отъема бычки выращивались беспривязно на глубокой подстилке на площадке по выращиванию и откорму мясного скота на 450 коров. Средняя живая масса при постановке на опыт бычков первой группы была $380 \, \mathrm{kr}$, второй — $349 \, \mathrm{u}$ третьей — $286 \, \mathrm{kr}$. Животные откармливались на рационах с повышенном содержании концентрированных кормов. Фактическое содержание концентрированных кормов по питательности составило в первой группе 68,6%, второй — 77,5%, третьей — 71%. В 1 кг опытного комбикорма содержалось 1,05 к.ед., 10,37 МДж обменной энергии, 884 г сухого вещества, 145,6 г сырого протеина, 62,5 г клетчатки. За 100 дней откорма среднесуточный прирост в первой группе составил 1676 г, второй — 1497 г и третьей — 1370 г.

Цель исследований

Изучить мясную продуктивность абердин-ангусских бычков разных возрастов и весовых кондиций, выращенных в условиях пойменного земледелия зоны Припятского Полесья и откорме при повышенном содержании концентрированных кормов.

Для изучения убойных показателей и качества туш подопытных бычков на Калинковичском мясокомбинате был проведен контрольный убой по 3 головы из каждой группы. При убое средний возраст бычков первой группы составлял 20 месяцев, второй — 17.5 и третьей — 15.3 месяцев, при живой массе 553 кг, 520 и 420 кг соответственно.

Основной цифровой материал обработан методом вариационной статистики по Π . Ф. Рокицкому [3] с использованием $\Pi \ni BM$ и программного обеспечения компании «Microsoft».