

УДК:636.4:577.2

**СКРИНИНГ АЛЛЕЛОФОНДА СТАД СВИНЕЙ ОРЛОВСКОЙ И ТУЛЬСКОЙ  
ОБЛАСТЕЙ РФ ПО ГЕНУ РИАНОДИН-РЕЦЕПТОРНОГО БЕЛКА**

<sup>1</sup>Чернуха И.М., <sup>2</sup>Ковалева О.А., <sup>2</sup>Крюков В.И., <sup>2</sup>Друшляк Н.Г., <sup>2</sup>Радченко М.В.

<sup>1</sup>*ВНИИ мясной промышленности им. В.М. Горбатова, Москва, Россия;*

<sup>2</sup>*Орловский государственный аграрный университет, Орел, Россия*

Целью работы было определение генотипической структуры по гену RYR1 в стадах чистопородных свиней крупная белая, йоркшир, ландрас, дюрок и гибридов йоркшир × ландрас, ландрас × йоркшир × дюрок в хозяйствах Орловской и Тульской области. Исследование ДНК, выделенной из крови 1083 чистопородных и гибридных свиней 8 стран происхождения (23 стада), показало, что частота встречаемости нормального аллеля N и мутантного аллеля n, во всей исследованной выборке составляет 0,915 и 0,085 соответственно, что проявилось в высокой концентрации стрессустойчивого генотипа NN – 87,4%. Таким образом, большинство протестированных животных генотипически устойчивы к стрессам. Частота встречаемости генотипа Nn в целом по всем протестированным животным составляет 8,3%. Эти животные фенотипически устойчивы к стрессу, но являются носителями дефектного аллеля. Стресс-чувствительный генотип nn во всей исследованной выборке встречается с частотой 4,3%, с разбросом от 0 до 14,3% в зависимости от породы и страны происхождения. Животные с этим генотипом гиперчувствительны к воздействию стресс-факторов и должны подлежать выбраковке и в промышленных, и в племенных хозяйствах, так как под действием стрессоров различного происхождения возможна смертность этих животных при выращивании, а также появление сырья с признаками PSE и DFD после убоя. Наибольшая частота встречаемости мутации выявлена среди гибридов йоркшир×ландрас – 0,106 и ландрас×йоркшир×дюрок – 0,109. В породах крупная белая и ландрас частота встречаемости мутантного аллеля была менее значительной – 0,059. У свиней крупная белая и йоркшир этот ген встречается только в стадах отечественной селекции. В целом, результаты исследования свидетельствуют о значительной вариации частоты встречаемости генотипа Nn и стресс-чувствительного генотипа nn в зависимости от породы и страны происхождения животного.

*Ключевые слова: чистопородные и помесные свиньи, чувствительность к стрессу, качество мяса, генетические маркеры*

*Keywords: pigs, breeds, hybrids, stress susceptibility, meat quality, gene markers*

### **Введение**

Проблема стрессов относится к числу актуальных биологических проблем в свиноводстве (Гуськов, 1994; Зиновьева, 2008; Максимов, 2010; Кудряшов и др., 2012, Лисицын и др., 2014). В соответствии со сложившейся концепцией, стрессоры через нервную и эндокринную систему вызывают морфологические и функциональные изменения в органах и тканях, обусловленные усилением синтеза и секреции гормонов адаптации, в целом повышающие резистентность организма к воздействию негативных факторов внешней среды, но нередко способствующие возникновению аномальных биохимических сдвигов в организме животного (Schaefer et al., 2001; Wurtman, 2002; Miller, O'Callaghan, 2002).

Исследованиями зарубежных и отечественных ученых установлено, что специфика аномальных биохимических процессов, приводящих к появлению мяса с признаками PSE (pale, soft, exudative – бледное, мягкое, водянистое) и DFD (dark, firm, dry – тёмное, жёсткое,

**ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ**  
– 2015. – №4. – С. 29-41.

сухое), тесно сопряжена у свиней с развитием стрессового синдрома (Porcine Stress Syndrome, PSS) (Fujii et al., 1991; Otsu et al. 1991, 1992; Рыжова, Калашникова, 2003; Черкаева, 2007; Зиновьева и др., 2008, 2010, 2012).

Главный ген, влияющий на предрасположенность свиней к стрессу – ген рианодин-рецепторного белка (HAL, CRC или RYR1) локализован на шестой хромосоме (6-PGD) и (Рыжова, Калашникова, 2003; Черкаева, 2007). Обнаружено восемнадцать точковых мутаций, одна из которых – замена цитозина в позиции 1843 на тимин, приводит к изменению аминокислотной последовательности рианодин-рецепторного белка в положении 615 – аргинин заменяется цистеином. Это приводит к образованию белка RYR1, реагирующего на действие регуляторов кальциевого канала или на повышенную концентрацию метаболитов, образующихся в мышечной ткани при воздействии нейро-гуморальных стимулов, что и является одной из причин стресс-чувствительности свиней. Животные, имеющие по гену RYR1 генотип NN, являются устойчивыми к стрессам, генотип nn – стрессчувствительными, гетерозиготы с генотипом Nn являются носителем гена стрессчувствительности (Fujii et al., 1991).

В свиноводстве важное значение имеет ранняя генетическая диагностика стрессчувствительности (Зиновьева, 2008). Выявление повышенной доли сырья с признаками PSE, поступающего на переработку (Чернуха и др., 2013), свидетельствует о необходимости проведения скрининга по гену RYR1 аллелофонда стад основных пород свиней, разводимых в ведущих животноводческих хозяйствах страны, а также поставляемых из других стран.

### **Материал и методы**

Исследования проведены на свиньях четырех основных наиболее часто встречающихся в России породах свиней: ландрас (Л), дюрок (Д), йоркшир (Й) и крупная белая (КБ), а также на свиньях двухпородного (Й×Л) и трехпородного (Л×Й×Д) скрещивания из животноводческих хозяйств Орловской и Тульской областей (табл. 1). Исследованы также животные из семи стран – основных поставщиков живых свиней в Россию.

Генотипирование по локусу RYR1 осуществляли методом ПЦР-ПДРФ (полимеразной цепной реакции полиморфизма длин рестриктных фрагментов (Kaminski et al., 2002; Крюков и др., 2011). ДНК выделяли из крови с использованием набора реагентов DIAtom™ DNA Prep100 (БИОКОМ, Россия). Амплификацию проводили с набором реагентов GenPak PCR Core (БИОКОМ, Россия) в амплификаторе MyCycler (BioRad, США), в качестве стандарта использовали маркер молекулярной массы ДНК GenPak DNA Markers M50 (БИОКОМ, Россия). Детекцию продуктов амплификации осуществляли в системе гель-документирования Gel Doc XR System (BioRad, США).

*Таблица 1. Характеристика животных*

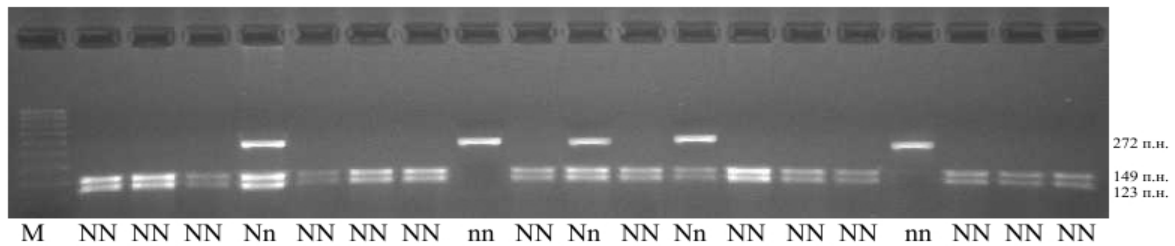
Породы и группы	Происхождение	Хозяйство	n	
Крупная белая	КБ-1	Россия	ОАО «Агрофирма «Ливенское мясо»	69
	КБ-2	Канада	ОАО «Озерский свинокомплекс»	71
	КБ-3	Россия	СПССПК 2-го уровня «Единство»	27
	КБ-4	Ирландия	СПССПК 2-го уровня «Единство»	8
	КБ-5	Франция	ООО «Бекон»	12
	КБ-6	Россия	ОАО «Мясная компания»	25
Йоркшир	Й-1	Россия	ОАО «Агрофирма «Ливенское мясо»	49
	Й-2	Канада	ОАО «Озерский свинокомплекс»	77
	Й-3	Беларусь	ОАО «Мясная компания»	34
	Й-4	Франция	ООО «Бекон»	21
Ландрас	Л-1	Канада	ОАО «Агрофирма «Ливенское мясо»	48
	Л-2	Канада	ОАО «Озерский свинокомплекс»	56
	Л-3	Бельгия	ОАО «Бекон»	15
	Л-4	Германия	ИП Киреев	6
	Л-5	Бельгия	ОАО «Мясная компания»	19

ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ  
– 2015. – №4. – С. 29-41.

Дюрок	Д-1	Канада	ОАО «Агрофирма «Ливенское мясо»	48
	Д-2	Канада	ОАО «Озерский свинокомплекс»	56
	Д-3	Франция	ООО «Бекон»	18
	Д-4	Канада	ИП Киреев	7
Й×Л	Й×Л-1	Канада	ОАО «Агрофирма «Ливенское мясо»	98
	Й×Л-2	Канада	ОАО «Озерский свинокомплекс»	58
Л×Й×Д	Л×Й×Д-1	Канада	ОАО «Агрофирма «Ливенское мясо»	130
	Л×Й×Д-2	Канада	ОАО «Озерский свинокомплекс»	136

Частоту встречаемости генотипов рассчитывали по формуле:  $P = N/n$ , где  $P$  – частота генотипа;  $n$  – количество животных, имеющих данный генотип;  $N$  – общее число животных.

Частоту отдельных аллелей определяли по формулам:



**ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ**  
– 2015. – №4. – С. 29-41.

выявил существенную вариабельность частот встречаемости аллелей и генотипов по гену RYR1 (табл. 2).

В одной из исследованных выборок свиней породы крупная белая (КБ-6) обнаружен рецессивный гомозиготный генотип pp с частотой встречаемости 4,0%. Животные с этим генотипом чувствительны к стрессам. Это может привести к повышенной смертности животных при выращивании и к появлению сырья с признаками PSE и DFD после убоя. Среди остальных исследованных стад свиней породы крупная белая животные с генотипом pp не обнаружены. Это может быть обусловлено начальным этапом проявления данной мутации в исследуемых стадах и гибелью этих животных в эмбриональный и ранний постэмбриональный период.

*Таблица 2. Распределение аллелей и генотипов по гену RYR1 в исследованных стадах свиней пород крупная белая и йоркшир*

ГЕНОТИПИРУЕМЫЕ ПОРОДНЫЕ ГРУППЫ*	N	ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ				
		ГЕНОТИПОВ, %			АЛЛЕЛЕЙ	
		NN	Nn	nn	N	n
КБ-1	69	81,2	18,8	0,0	0,906	0,094
КБ-2	71	95,8	4,2	0,0	0,979	0,021
КБ-3	27	88,9	11,1	0,0	0,944	0,056
КБ-4	8	100	0,0	0,0	1,000	0,000
КБ-5	12	91,7	8,3	0,0	0,958	0,042
КБ-6	25	84,0	12,0	4,0	0,900	0,100
Итого по КБ	<b>207</b>	<b>88,6</b>	<b>10,9</b>	<b>0,5</b>	<b>0,941</b>	<b>0,059</b>
Й-1	49	81,6	14,3	4,1	0,887	0,113
Й-2	77	94,8	5,2	0,0	0,974	0,026
Й-3	34	85,3	8,8	5,9	0,897	0,103
Й-4	21	90,4	9,6	0,0	0,952	0,048
Итого по Й	<b>181</b>	<b>88,9</b>	<b>8,8</b>	<b>2,2</b>	<b>0,934</b>	<b>0,066</b>

Примечание: \* данные по породам и странам происхождения приведены в табл. 1.

Стресс-устойчивые носители дефектного гена с генотипом Nn выявлены во всех исследованных выборках свиней породы крупная белая, кроме КБ-4. При этом в стадах свиней отечественной селекции КБ-1, КБ-3, КБ-6 частота встречаемости животных - носителей дефектного аллеля составляет 18,8, 11,1 и 12,0%, т.е. выше, чем в выборках КБ-2 и КБ-5 животных канадской и французской селекции – 4,2 и 8,3% соответственно. В стаде КБ-4 (ирландской селекции) все свиньи имели стресс-устойчивый генотип NN.

В целом по исследованным выборкам свиней породы крупная белая, генетический груз мутации, вызывающей стресс-синдром, невелик. Частота встречаемости дефектного аллеля n составляет – 0,059, а нормального аллеля N – 0,941. Схожие данные ранее получены при исследовании свиней породы крупная белая в хозяйствах Самарской и Московской областей (Марзанов и др., 2001), у свиней крупная белая в Чувашской республике частота встречаемости дефектного аллеля составляла 0,012, а в хозяйствах Ивановской области она варьировала от 0,033 до 0,059 (Рыжова, 2001), в племенных хозяйствах республики Удмуртия – от 0,010 до 0,020 (Гатчинкова и др., 2012).

Таким образом, частота встречаемости рецессивного аллеля у свиней породы крупная белая в различных регионах страны существенно вариабельна. Об этом свидетельствуют данные табл. 2 с учетом страны происхождения свиней. Так, в четырех исследованных стадах свиней КБ и Й из России и одном стаде из Беларуси животные с генотипом Nn обнаружены с частотой встречаемости от 11,1 до 18,8%. При этом в двух стадах, по одному – КБ и Й, встречаются и животные с генотипом pp, что не отмечено в стадах свиней из других стран. Наличие в значительных количествах генетической мутации, по всей видимости, связано с различиями в селекционных стратегиях, а также недостаточно квалифицированной селекцией и неразвитой системой генетического мониторинга в свиноводческих предприятиях России.

**ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ**  
**– 2015. – №4. – С. 29-41.**

Исследование четырех стад свиней породы йоркшир, разводимых в Орловской и Тульской областях, показало, что из 181 особи случайной выборки 88,9% имеют гомозиготный доминантный генотип, 8,8% – гетерозиготный генотип и 2,2% – гомозиготный рецессивный генотип (табл. 2).

Животные с генотипом *nn* обнаружены в двух стадах йоркширов – Й-1 и Й-3 отечественной и белорусской селекции, с частотой встречаемости 4,1 и 5,9% соответственно. В стадах Й-2 и Й-4, доставленных из нуклеуса компании International Genetics Ltd. (Канада) и нуклеуса компании Cooperl Arc Atlantique (Франция), рецессивный гомозиготный генотип обнаружен не был.

Животные - скрытые носители мутантного аллеля выявлены во всех исследованных стадах. При этом частота встречаемости генотипа *Nn* варьирует от 5,2% у животных канадской селекции (Й-2) до 14,3% у свиней отечественной селекции (Й-2) и в среднем по породе составляет 8,8%.

Частота аллелей *N* и *n* в целом по исследованным стадам свиней породы йоркшир составила 0,934 и 0,066 соответственно. Частота встречаемости мутантного аллеля *n* у свиней породы йоркшир, разводимых в Орловской и Тульской областях, на 11,9% выше, чем у свиней породы крупная белая. В ходе скрининга гена *RYR1* у свиней породы йоркшир, разводимых в Беларуси, ранее был выявлен более высокий уровень частоты встречаемости рецессивного аллеля *n* – 0,17 (Епишко и др., 2008). Широкомасштабные исследования по контролю и элиминации рецессивных наследственных аномалий у сельскохозяйственных животных, проведенные специалистами ВИЖа, показали наличие мутантного аллеля *RYR1* во всех основных породах свиней, используемых в промышленном производстве свинины, в том числе и у породы йоркшир – до 1,97 % (Зиновьева и др. 2012).

При анализе полиморфизма гена *RYR1* в пяти стадах свиней породы ландрас, установлено, что животные имеют в своем геноме ген, поврежденный мутацией и несущий предрасположенность к стрессам (табл. 3).

В стадах Л-2, Л-3 и Л-5 обнаружены животные с рецессивным гомозиготным генотипом. Частота его встречаемости у свиней канадской селекции (Л-2) относительно невелика – 1,8%. Свиньи породы ландрас бельгийской селекции из хозяйств ОАО «Бекон» (Л-3) и ОАО «Мясная компания» (Л-5) имеет частоту встречаемости генотипа *nn* 11,3 и 10,5% соответственно. Таким образом, наши данные могут стать основанием для свиноводческих хозяйств отказаться от синей породы ландрас из Бельгии, либо перед покупкой тщательно изучить распределение аллелей и генов по генотипу *RYR1*.

*Таблица 3. Распределение аллелей и генотипов по гену RYR1 в исследованных стадах свиней породы ландрас и дюрок*

ГЕНОТИПИРУЕМЫЕ ПОРОДНЫЕ ГРУППЫ*	N	ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ				
		ГЕНОТИПОВ, %			АЛЛЕЛЕЙ	
		NN	Nn	nn	N	n
Л-1	48	91,7	8,3	0,0	0,958	0,042
Л-2	56	92,8	5,4	1,8	0,955	0,045
Л-3	15	80,0	6,7	13,3	0,833	0,167
Л-4	6	83,3	16,7	0,0	0,868	0,132
Л-5	19	79,0	10,5	10,5	0,842	0,158
<b>Итого по Л</b>	<b>144</b>	<b>88,9</b>	<b>7,6</b>	<b>3,5</b>	<b>0,927</b>	<b>0,059</b>
Д-1	48	87,5	8,3	4,2	0,917	0,083
Д-2	56	89,2	5,4	5,4	0,920	0,080
Д-3	18	83,3	11,1	5,6	0,889	0,111
Д-4	7	85,7	0,0	14,3	0,857	0,143
<b>Итого по Д</b>	<b>129</b>	<b>87,6</b>	<b>7,0</b>	<b>5,4</b>	<b>0,911</b>	<b>0,089</b>

Примечание: \* обозначение породных групп и страна происхождения приведены в табл. 1.

Схожие данные ранее были получены при исследовании стрессрезистентности свиней породы бельгийский ландрас с помощью галотанового теста (Jabłoński, Golemanov, 1983).

В стадах Л-1 и Л-4 (канадской и немецкой селекции) животные с генотипом  $nn$  обнаружены не были. Однако исследователями (Brenig, Brem, 1992) установлено, что до 70% свиней породы немецкий ландрас чувствительны к стрессам.

В среднем по породе ландрас частота встречаемости рецессивного гомозиготного генотипа составляет 3,5%, что на 1,3% больше чем у породы йоркшир и на 3,0% больше чем у породы крупная белая, разводимой в хозяйствах Орловской и Тульской области.

Гетерозиготный генотип выявлен во всех исследованных стадах свиней породы ландрас. Частота встречаемости генотипа  $Nn$  варьирует от 5,4-6,7% в стадах Л-2 и Л-3 до 10,5-16,7% в стадах Л-5 и Л-4 и в среднем по породе составляет 7,6%. Полученные нами данные значительно ниже результатов, выявленных в ходе ПЦР-ПДРФ тестирования свиней породы ландрас в Краснодарском крае (Ковалюк, 2002), где частота встречаемости генотипа  $Nn$  составила 39% среди хряков и 32% у маток.

Наибольшая частота встречаемости аллеля  $n$  отмечается у животных бельгийской селекции в стадах Л-3 и Л-5, а также немецкой селекции Л-4. Наименьшей частотой встречаемости дефектного аллеля характеризовались животные канадской селекции Л-1 и Л-2.

В целом по породе частота встречаемости аллеля, несущего генетический груз мутации  $n$ , составляет 0,059, а нормального аллеля  $N$  – 0,927. Это сопоставимо с результатами, полученными нами по крупной белой породе свиней. Частота встречаемости аллеля  $n$  мутантного гена  $RYR1$  у свиней породы ландрас в Кировской области несколько ниже – 0,013 (Рыжова, 2001). Белорусские учёные установили, что частота встречаемости рецессивного аллеля у свиней породы ландрас, разводимых в республике Беларусь, варьирует от 0,10 до 0,17 (Епишко и др., 2008). Более высокая частота встречаемости аллеля  $n$  наблюдается в стадах свиней породы ландрас, разводимых за рубежом. Так, в Польше она составляет от 0,125 до 0,219 (Kmiec et al., 2000), в Германии – от 0,63 до 0,74 (Hardge et al., 1995), в Чехии – от 0,054 до 0,245 (Kahankova et al., 1996).

Значительные различия частоты встречаемости мутантного аллеля у свиней породы ландрас в отдельных регионах нашей страны и за рубежом связаны с интенсивным отбором в процессе селекции на увеличение количества мяса и уменьшение толщины шпика в туше.

Анализ частот генотипов по гену  $RYR1$  в четырех стадах свиней породы дюрок показал выявил наличие гетерозиготного рецессивного генотипа во всех стадах (табл. 3). Наибольшая частота встречаемости генотипа  $nn$  характерна для свиней стада Д-4 – 14,3%, а в стадах Д-1, Д-2 и Д-3 частота встречаемости рецессивного генотипа варьирует от 4,2 до 5,6%.

В среднем по породе дюрок, частота встречаемости генотипа  $nn$  составляет 5,4%, что выше на 4,9% чем у свиней породы крупная белая и на 3,2 и 1,9% чем у свиней пород йоркшир и ландрас соответственно. Схожие данные получены при исследовании свиней породы дюрок немецкой селекции (Otto et al., 2007), а также при исследовании стад свиней дюрок в Онтарио и Квебеке (Murray, Johnson, 1998). Однако, исследования не выявили наличие гомозиготного рецессивного генотипа у свиней породы дюрок в племенных хозяйствах Краснодарского края, Орловской области, Ставропольского края и Рязанской области (Ковалюк, 2002; Зиновьева и др., 2005; Кравченко, Селионова, 2007; Заболотная и др., 2011). Это связано с хорошо налаженным генетическим мониторингом по гену  $RYR1$  всех животных, вводимых в исследованные стада извне.

В стадах Д-1, Д-2 и Д-3 обнаружены стрессустойчивые носители дефектного гена с генотипом  $Nn$ , при этом его наибольшая частота встречаемости характерна для стад свиней французской селекции Д-3 – 11,1%. У свиней канадской селекции в стадах Д-2 и Д-1 частота генотипа  $Nn$  варьирует от 5,4% до 8,3% соответственно. В стаде Д-4, несмотря на наибольшую частоту встречаемости рецессивного гомозиготного генотипа, гетерозиготный генотип обнаружен не был. Это можно объяснить небольшой по объёму выборкой проанализированных животных из этого стада.

**ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ**  
– 2015. – №4. – С. 29-41.

Наибольшая частота встречаемости аллеля *p* отмечена в стадах Д-4 и Д-3. Наименьшей частотой встречаемости этого аллеля характеризовались животные стад Д-2 и Д-1. Частота встречаемости аллеля *p* в целом по породе дюрок составляет 0,089, что выше, чем у остальных протестированных чистопородных животных.

Исследованиями, проведенными специалистами ВНИИМП, ВНИИплем, МГАВМиБ, Донского ГАУ, Кубанского ГАУ установлено, что двухпородные гибриды Й×Л и трехпородные Л×Й×Д характеризуются высокими показателями мясной и откормочной продуктивности (Толоконцев, 2007; Кабанов, Титов, 2011; Колмацкий, 2012; Михайлов и др., 2012; Лисицын, 2013). Однако вследствие интенсивной селекции на мясность, эти животные имеют генетическую предрасположенность к стрессам (Лисицын, 2013). Это подтверждается данными, полученными нами в ходе генотипирования по гену *RYR1* в стадах двух- и трехпородных гибридов, выращенных в условиях ОАО «Агрофирма «Ливенское мясо» и ОАО «Озерский свинокомплекс» (табл. 4).

*Таблица 4. Распределение аллелей и генотипов по гену RYR1 в исследованных группах гибридов йоркшир × ландрас и ландрас × йоркшир × дюрок*

ГЕНОТИПИРУЕМЫЕ ПОРОДНЫЕ ГРУППЫ*	N	ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ				
		ГЕНОТИПОВ, %			АЛЛЕЛЕЙ	
		NN	Nn	nn	N	n
Й×Л-1	98	86,7	6,1	7,2	0,898	0,102
Й×Л-2	58	84,5	8,6	6,9	0,888	0,112
<b>Итого по Й×Л</b>	<b>156</b>	<b>85,9</b>	<b>7,1</b>	<b>7,1</b>	<b>0,894</b>	<b>0,106</b>
Л×Й×Д-1	130	84,6	7,7	7,7	0,885	0,115
Л×Й×Д-2	136	86,0	7,4	6,6	0,897	0,103
<b>Итого по Л×Й×Д</b>	<b>266</b>	<b>85,4</b>	<b>7,5</b>	<b>7,1</b>	<b>0,891</b>	<b>0,109</b>

Примечание: \* обозначение породных групп и страна происхождения приведены в табл. 1.

ДНК-диагностика 156 особей двухпородных гибридов Й×Л и 266 особей трехпородных гибридов Л×Й×Д показала, что частота встречаемости рецессивного гомозиготного генотипа *nn* для этих породосочетаний составляет 7,1%, что выше на 6,6, 4,9, 3,6% и 1,7%, чем у чистопородных свиней крупная белая, йоркшир, ландрас и дюрок соответственно. При этом частота встречаемости генотипа *nn* в стадах гибридов, выращенных в ОАО «Агрофирма «Ливенское мясо», составляет 7,2% для двухпородных гибридов (Й×Л-1) и 7,7% – для трехпородных гибридов (Л×Й×Д-1), что выше на 0,3% и 1,1%, чем у животных, выращенных в условиях ОАО «Озерский свинокомплекс» соответственно. Частота встречаемости генотипа *nn* у коммерческих гибридов за рубежом несколько ниже и составляет в Бразилии 5,6 (Bastos et al., 2001), в Латвии – 5,0 (Stira et al., 2003), в Аргентине – 4,2% (Marini et al., 2012). Однако при исследовании двух- и трехпородных гибридов в Польше и Китае не обнаружили рецессивного гомозиготного генотипа (Sieczkowska et al., 2009; Ruan et al., 2013), что может быть связано с различной интенсивностью селекции на мясность и хорошо налаженным генетическим контролем в этих хозяйствах.

Частота встречаемости стрессустойчивого гетерозиготного генотипа *Nn* в стаде двухпородных гибридов Й×Л-1 составляет 6,1%, что на 2,5% выше, чем в стаде Й×Л-2. В целом у двухпородных гибридов частота встречаемости генотипа *Nn* составляет 7,1%. У трехпородных гибридов в целом по протестированным особям генотип *Nn* встречается с частотой 7,5%, что на 0,4% выше чем у двухпородных гибридов Й×Л.

Аллель *p*, несущий генетический груз мутации, встречается с частотой 0,102 в стаде Й×Л-1 и 0,112 в стаде Й×Л-2. В среднем по протестированным двухпородным гибридам частота аллеля *p* составляет 0,106, что выше на 79,7% выше, чем у наиболее стрессрезистентных свиней породы крупная белая, разводимых в Орловской и Тульской областях. У трехпородных гибридов в стаде Л×Й×Д-1 аллель *p* встречается с частотой 0,115, в стаде

Л×Й×Д-2 – 0,103. В целом по исследованным стадам трехродных гибридов частота встречаемости аллеля  $n$  составляет 0,109, что выше на 65,2, 84,7 и 22,5% чем у протестированных нами свиней йоркшир, ландрас и дюрок соответственно.

Таким образом, в ходе скрининга аллелофонда стад свиней Орловской и Тульской областей по гену RYR1 установлена относительно высокая частота встречаемости стрессчувствительного генотипа  $np$  и мутантного аллеля  $n$  у свиней ландрас и дюрок, а также у гибридов Й×Л, Л×Й×Д, что будет приводить к прижизненному формированию сыръя с признаками PSE и DFD.

### Заключение

Исследование большой выборки, состоящей из 1083 чистопородных и гибридных свиней 8 стран происхождения (23 стада) из хозяйств Орловской и Тульской областей, показало, что частота встречаемости нормального аллеля  $N$  и аллеля  $n$ , в целом составляет 0,915 и 0,085 соответственно, что проявилось в высокой концентрации стрессустойчивого генотипа  $NN$  – 87,4%. Таким образом, большинство протестированных животных генотипически устойчивы к стрессам.

Частота встречаемости генотипа  $Np$  в целом по всем протестированным животным составляет 8,3%. Эти животные фенотипически устойчивы к стрессу, но являются носителями дефектного аллеля. Согласно правилам менделевского наследования, при скрещивании гетерозиготных хряков с гетерозиготными свиньями, наряду с гомозиготными доминантными и гетерозиготными потомками, будут появляться гомозиготные рецессивные стресс-чувствительные особи  $np$  в соотношении 1:2:1. Это будет сопряжено с сохранением и увеличением частоты встречаемости мутантного аллеля гена RYR1 в следующих поколениях животных.

Стресс-чувствительный генотип  $np$  во всей исследованной выборке встречается с частотой 4,3%, с разбросом от 0 до 14,3% в зависимости от породы и страны происхождения; у свиней крупная белая и йоркшир этот ген встречается только в стадах отечественной селекции. Животные с этим генотипом гиперчувствительны к воздействию стресс-факторов и должны подлежать выбраковке и в промышленных, и в племенных хозяйствах, так как под действием стрессоров различного происхождения возможна смертность животных при выращивании, а также появление сыръя с признаками PSE и DFD после убоя. Восприимчивые к стрессу свиньи отличаются худшими продуктивными признаками. Следовательно, хозяйствам-производителям свинины, в частности, в Орловской и Тульской областях, целесообразно вести отбор не только по комплексу фенотипических показателей, но также принимать во внимание результаты генотипирования животных по гену-маркеру RYR1 и учитывать страну происхождения животного.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Гатченкова Т.Б., Калашникова Л.А., Хабибрахманова Я.А. Полиморфизм генов эстрогенового, пролактинового и рианодинового рецепторов у свиней // Материалы докладов конф. «Актуальные проблемы генетики и молекулярной биологии». Уфа: Башкирский ГАУ, 2012. – С. 108-113.
2. Гуськов А.Н. Влияние стресс-фактора на состояние сельскохозяйственных животных – М.: Агропромиздат, 1994. – 384 с. С. 38–41.
3. Епишко Т.И., Ковальчук М.А., Журина Н.В., Епишко О.А., Мостовой Д.Е. Мониторинг генетической устойчивости пород свиней, разводимых в Белоруссии, к наследственным заболеваниям // Материалы международной конференции «Генетика и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты». – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – С. 183-185.
4. Заболотная А.А., Сбродов С.С., Зиновьева Н.А. Влияние генотипа хряков по маркеру стрессоустойчивости RYR1 на их воспроизводительные качества // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2011. – № 5. – С. 51-54.



ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ  
– 2015. – №4. – С. 29-41.

5. Зиновьева Н.А. Молекулярно-генетические методы и их использование в свиноводстве // Достижения науки и техники АПК – 2008. – № 10. – С. 34-36.
6. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Костюнина О.В., Харзинова В.Р., Покровская М.В., Друшляк Н.Г., Кабицкая Я. А. Роль ДНК-диагностики в контроле и элиминации рецессивных наследственных аномалий у сельскохозяйственных животных // Достижения науки и техники АПК. – 2012. – № 11. С. 37-40.
7. Зиновьева Н.А., Костюнина О.В., Гладырь Е.А., Банникова А.Д., Харизинова В.Р., Ларионова П.В., Шавырина К.М., Эрнст Л.К Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных // Зоотехния. – 2010. – № 1. С. 8-10.
8. Зиновьева Н.А., Серов В.М., Шавырина К.М., Адаменко В.А. Внедрение системы маркерной селекции в свиноводство Орловской области // Животноводство России. – 2005. – № 2. – С. 28-30.
9. Кабанов В., Титов И. Йоркшир, ландрас, дюрок или гибриды? // Животноводство России. – 2011. – № 9. – С. 37.
10. Ковалюк Н.В. Использование в селекции свиней генетических маркеров стрессустойчивости и многоплодия: автореф. дисс...к.б.н. – Боровск, 2002. – 26 с.
11. Комлацкий Г. Уроки «Пяточка» // Животноводство России. – 2012. – № 8. – С. 33-34.
12. Кравченко М.И., Селионова М.И. Откормочные и мясные качества свиней скороспелой мясной породы разных генотипов RYR1 локуса // Свиноводство. – 2007 – № 6 – С 13-15.
13. Крюков В.И., Пикунова А.В., Друшляк Н.Г. Использование ДНК-маркеров в селекции свиней // Вестник Орловского ГАУ. – 2011. – № 1. – С. 36-40.
14. Кудряшов Л.С., Кудряшова О.А. Влияние стресса животных на качество мяса // Мясная индустрия. – 2012. – № 1. – С. 8-11.
15. Лисицын А.Б., Чернуха И.М., Сусь И.В., Лисицова С.А Качество свинины. Новые требования рынка // Зоотехния. – 2014. – № 2. – С. 2-4.
16. Лисицын А.Б. Качество свинины: стандарты и методы оценки // Зоотехния. – 2013. – Спецвыпуск. – С. 35-36.
17. Максимов А.Г. Изменение гематологических, иммунологических и биохимических показателей крови у свиней при транспортном стрессе // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – № 6. – С. 60-66.
18. Марзанов Н.С., Фролкин Д.А., Зиновьева Н.А., Попов А.Н., Данилин А.В. RYR1 ген у свиней отечественных и зарубежных пород // Доклады РАСХН. – 2001.– № 1. – С. 34-37.
19. Меркурьева Е.А., Шангин-Березовский Г.Н. Генетика с основами биометрии. – М.: Колос, 1983. – 400 с.
20. Михайлов Н., Свинарев И., Гончаров А. Мясные качества трехпородных гибридов // Животноводство России. – 2012. – Спецвыпуск. – С. 45-46.
21. Рыжова Н.В. Полиморфизм гена RYR1 в популяциях свиней мясных пород: автореф. дисс...к.б.н. – Лесные Поляны, 2001. – 23 с.
22. Рыжова Н.В., Калашникова Л.В. Ген RIR 1 и продуктивность свиней мясных пород // Животноводство России. – 2003. – № 9. – С. 46-47.
23. Толоконцев А.И. Породные ресурсы свиней йоркшир, ландрас, дюрок канадской селекции и эффективность их использования в системах гибридизации: автореф. дисс. д.с.-х.н. – Лесные Поляны, 2007. – 50 с.
24. Черкаева Е.А. Эффективные технологии – качественное мясо // Животноводство России. – 2007. – Спецвыпуск. – С. 38-39.
25. Чернуха И.М., Шалимова О.А., Селеменев Г.Г., Макеева Ю.С., Радченко М.В. Изучение объемов PSE- и DFD-свинины, поступающей на мясоперерабатывающие предприятия Орловской области // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. – 2013. – Т. 18. –№ 1. – С. 24-30.
26. Bastos R.G., Federizzi J., Deschamps J.C., Cardellino R.A., Dellagostin O.A. Efeito do gene do estresse suíno sobre características de quantidade e qualidade // Rev. Bras. Zootec. – 2001. – Vol. 30. –No. 1. – P. 37-40.
27. Brenig B., Brem G. Genomic organization and analysis of the 5' end of the porcine ryanodine receptor gene (ryr-1) // FEBS Let. – 1992. – Vol. 298. – No 2-3. – P. 277-298.
28. Fujii J., Kinya O., Zorzato F., Leon S., Khanna V. K., Weiler J. E. Identification of a Mutation in Porcine Ryanodine Receptor Associated with Malignant Hyperthermia // Science. – 1991. – Vol. 253. – P. 448-451.
29. Hardge T., Scholz A., Gregor The influence of RYR1 genotype on male fertility in pigs // In: Proceedings of The 46th EAAP Annual Meeting. – Prague, Czech Republic. 1995, p. 268.
30. Jabłoński C., Golemanov D. Halotan świnie testowe // Zywy inwentarz. – 1983. – Vol. 12. – P. 48-51.

ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ  
– 2015. – №4. – С. 29-41.

31. Kahankova L., Dvorak J., Nebola M., Vrtkova I., Hradil R. Diversity of the populations of Large White and Landrace breed in the Czech Republic in 1995 from the standpoint of genotypes RYR // *Zivocisna vyroba*. – 1996. – Vol. 41 – No. 7. – P. 285-289.
32. Kaminski S. Rusc A., Wojtasik K. Simultaneous identification of ryanodine receptor 1 (RYR1) and estrogen receptor (ESR) genotypes with the multiplex PCR-RFLP method in Polish Large White and Polish Landrace pigs // *J. Appl. Genet.* – 2002. – Vol. 43. – No.3 . – P. 331-335.
- 33.

ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ  
– 2015. – №4. – С. 29-41.

7. Gatchenkova T.B., Kalashnikova L.A., Khabibrakhmanova Ya.A. [Polymorphism of of estrogen, prolactin and ryanodine receptors genes in pigs]. In: *Materialy dokladov konferenzii «Aktual'nye problemy genetiki i molekulyarnoi biologii»* (Proc. conf.: Actual problems of genetics and molecular biology). Ufa: Bashkirskii GAU, 2012, P. 108-111.
8. Guskov A.N. Vlijanie stress-faktora na sostojanie sel'skhozjajstvennyh zhivotnyh (The impact of stress factors on farm animals). Moscow: Agropromizdat Publ., 1994, 384 p.
9. Hardge T., Scholz A., Gregor The influence of RYR1 genotype on male fertility in pigs. In: *Proc. 46th EAAP Annual Meeting*. Prague, 1995, p. 268.
10. Jabłoński C., Golemanov D. Halotan świnie testowe. *Zywy inwentarz*. 1983, 12: 48-51.
11. Kabanov V., Titov I. *Zhivotnovodstvo Rossii - Animal Husbandry in Russia*. 2011, 9: 37.
12. Kahankova L., Dvorak J., Nebola M., Vrtkova I., Hradil R. Diversity of the populations of Large White and Landrace breed in the Czech Republic in 1995 from the standpoint of genotypes RYR. *Zivocisna vyroba*. 1996, 41(7): 285-289.
13. Kaminski S. Rusc A., Wojtasik K. Simultaneous identification of ryanodine receptor 1 (RYR1) and estrogen receptor (ESR) genotypes with the multiplex PCR-RFLP method in Polish Large White and Polish Landrace pigs. *J. Appl. Genet.* 2002, 43(3): 331-335.
- 14.

32. Ryzhova N.V. *Polimorfizm gena RYR1 v populyatsiyakh svinei myasnykh porod* (RYR1 gene polymorphism in populations of meat swine breeds). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci., Lesnye Polyany, 2001, 23 p.
33. Ryzhova N.V., Kalashnikova L.V. *Zhivotnovodstvo Rossii - Animal Husbandry in Russia*. 2003, 9: 46-47.
34. Schaefer A.L., Dubeski P.L., Aalhus J.L., Tong A.K. Role of nutrition in reducing antemortem stress and meat quality aberrations. *Journal of Animal Science*. 2001, 79: 91-101.
35. Sieczkowska H., Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Antosik K., Zybert A. Quality and technological properties of meat from Landrace-Yorkshire × Duroc and Landrace-Yorkshire × Duroc-Pietrain fatteners. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2009, 59(4): 329-333.
36. Stira A., Ramiød E., Nudiens J., Kaugers R., Veide Dz. Porcine stress syndrom (PSS) in purebred and crossbred Latvian pigs. In: *Proc. 9th Baltic Animal Breeding Conference*. – Sigulda: Latvia University of Agriculture Publ., 2003, 140 p.
37. Tolokontsev A.I. *Porodnye resursy svinei iorkshir, landras, dyurok kanadskoi selektsii i effektivnost' ikh ispol'zovaniya v sistemakh gibrizatsii* (Breed resources of pigs Yorkshire, Landrace, Duroc of Canadian selection and effectiveness of their use in hybridization). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci. Agric., Lesnye Polyany, 2007, 50 p.
38. Wurtman R. J. Stress and the adrenocortical control of epinephrine synthesis. *Metabolism*. 2002, 51, Suppl. 1: 11-14.
39. Zabolotnaya A.A., Sbrodov S.S., Zinov'eva N.A. [Influence of RYR1 genotype of boars on their reproductive performance]. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki - Siberian Herald of Agricultural Science*. 2011, 5: 51-54.
40. Zinov'eva N.A. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK– Advances in science and technology in agricultural sector*. 2008, 10: 34-36.
41. Zinov'eva N.A., Gladyr' E.A., Kostyunina O.V., Kharzinova V.R., Pokrovskaya M.V., Drushlyak N.G., Kabitskaya Ya. A. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK– Advances in science and technology in agricultural sector*. 2012, 11: 37-40.
42. Zinov'eva N.A., Kostyunina O.V., Gladyr' E.A., Bannikova A.D., Khariznova V.R., Larionova P.V., Shavyrina K.M., Ernst L.K. *Zootekhnika - Zootechnics*. 2010, 1: 8-10.
43. Zinov'eva N.A., Serov V.M., Shavyrina K.M., Adamenko V.A. *Zhivotnovodstvo Rossii - Animal Husbandry in Russia*. 2005, 2: 28-30.

**Screening allele pool of gene ryanodine receptor protein in herds of pigs  
in Orel and Tula regions of Russian Federation**

\* Chernuha I.M., Kovaleva O.A., Kryukov V.I., Drushlyak N.G., Radchenko M.B.

\* *Gorbatov Institute of Meat Industry, Moscow, Russian Federation; Orel State  
Agrarian University, Orel, Russian Federation*

**ABSTRACT.** The aim of the work was to determine the genotypic patterns of gene RYR1 in herds of pigs of breeds Large White, Yorkshire, Landrace, Duroc and Landrace × Yorkshire hybrid, Landrace × Yorkshire × Duroc different origin in Orel and Tula region of RF. The study of DNA isolated from the blood of 1083 purebred and hybrid pigs of 8 countries of origin (23 herds), showed that the frequency of normal allele N and mutant allele n, across the studied sample is 0.915 and 0.085 respectively, which showed a high concentration of stress resistant genotype NN - 87.4%. Thus, the majority of animals tested have genotypic resistance to stress. The frequency of the genotype Nn in all tested sample is 8.3%. These animals are phenotypically resistant to stress, but are carriers of the defective allele. Stress sensitive nn genotype in all investigated sample occurs with a frequency of 4.3%, ranging from 0 to 14.3%, depending on the species and origin. Animals with this genotype are hypersensitive to the effects of stress factors, and should be subject to culling in industrial and breeding farms, since under the influence of stressors of various origins, the increased possible mortality of these animals is probable, as well as the appearance of meat with signs PSE and DFD after slaughter. The highest frequency of mutations was found among hybrids of

ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ  
– 2015. – №4. – С. 29-41.

Landrace × Yorkshire - 0.106 × Landrace and Yorkshire × Duroc - 0.109. In Large White and Landrace breeds, the frequency of mutant allele was less significant – 0,059. In Large White and Yorkshire pigs this gene was found only in herds of Russian breeding. Overall, the findings indicate a considerable variation in frequency of the genotype Nn and stress-sensitive genotype nn depending on the breed and the country of origin of the animal.

*Keywords: pigs, breeds, hybrids, stress susceptibility, gene markers*

Поступило в редакцию: 01.09.2015.

Сведения об авторах

**Чернуха Ирина Михайловна**, д.т.н., проф., зам. дир., imcher@inbox.ru;  
**Ковалева Оксана Анатольевна**, д.б.н., доц., iniic@mail.ru;  
**Крюков Владимир Иванович**, д.б.н., ст.н.с., проф., ecogenet@mail.ru;  
**Друшляк Наталья Геннадьевна**, к.б.н., iniic@mail.ru;  
**Радченко Михаил Васильевич**, соиск., mish100987@yandex.ru.