



ПОЛИМОРФИЗЪМ НА ЕСТРОГЕН РЕЦЕПТОРНИЯ ГЕН ПРИ ПОПУЛАЦИИ СВИНЕ ОТ ПОРОДАТА ГОЛЯМА БЯЛА В УКРАИНА И БЕЛАРУС
ПОЛИМОРФИЗМ ПОПУЛЯЦИЙ СВИНЕЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ УКРАИНЫ И БЕЛАРУСИ ПО ГЕНУ РЕЦЕПТОРА ЭСТРОГЕНА
LARGE WHITE SWINE POPULATION POLYMORPHISM BY ESTROGEN RECEPTOR GENE IN UKRAINE AND BELARUS

Оксана Коновал¹, Елена Сидоренко², Светлана Костенко^{1*}, Наталья Камиш³
Оксана Коновал¹, Елена Сидоренко², Светлана Костенко^{1*}, Наталья Камыш³
Oxana Konoval¹, Elena Sydorenko², Svetlana Kostenko^{1*}, Natalja Kamysh³

¹Национален университет по биоресурси и природоползване на Украйна, ул. „Генерал Родимцев“ 11 корпус 7-а, НУБиП Украйна, г. Киев, 03041

²Институт по развъждане и генетика на животните НААН, ул. „Погребняк“ 1, Киевска област Борисполский район, с. Чубинское, 08321

³ЗГНУ Институт по генетика и цитология НАН Беларус, 220072, г. Минск, ул. „Академическа“ 27

¹Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, ул. „Генерала Родимцева“, дом 11 корпус 7-а, НУБиП Украины, г. Киев, 03041

²Институт разведения и генетики животных НААН, ул. Погребняка, 1, Киевская область Бориспольский район, с. Чубинское, 08321

³ЗГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

¹National University of the Environmental Science of Ukraine

²Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS of Ukraine

³Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus

*E-mail: swetakostenko@mail.ru

Резюме**

Чрез PCR (полимеразна верижна реакция) RFLP (полиморфизъм по дължината на рестрикционните фрагменти) е установен широк вариабилитет на честотите на алелите и генотипите на естроген рецепторния ген (ESR) при 11 популации свине от породата Голяма бяла, отглеждана в Украйна и Беларус. При по-голяма част от изследваните популации наблюдаваната хетерозиготност (H_0) е била по-висока от теоретично очакваната. Установени са разлики по честотите на алелите и генотипите на ESR между различни групи животни дори в пределите на едно стопанство. При четирите изследвани популации от Беларус е наблюдаван широк размах на честотата на алел В (от $0,08 \pm 0,026$ до $0,40 \pm 0,085$ при нерезите; $0,179 \pm 0,024 - 0,500 \pm 0,014$ при свинете майки; $0,143 \pm 0,027 - 0,614 \pm 0,023$ при ремонтните прасета). При седемте украински популации честотите на алел В са били: $0,15 \pm 0,027 - 0,568 \pm 0,025$ при племенните свине майки и $0,500 \pm 0,026 - 0,58 \pm 0,029$ - в стоките стада, средно за стадото.

Резюме

Методом ПЦР ПДРФ выявлен широкий уровень вариативности частот аллелей и генотипов гена ESR во всех 11 исследованных популяциях свиней Крупной белой породы, содержащихся в Украине и Беларуси. Подавляющее большинство исследованных популяций свиней характеризуется высокой фактической (H_0) гетерозиготностью по сравнению с теоретически ожидаемой. Найдены различия по частотам аллелей и генотипов гена ESR между различными группами животных даже в пределах одного хозяйства. Четыре исследованные популяции свиней Беларуси по гену ESR в целом характеризуются широким размахом частот аллеля В (от $0,08 \pm 0,026$ до $0,40 \pm 0,085$ у хряков, $0,179 \pm 0,024 - 0,500 \pm 0,014$ в основных свиноматок, $0,143 \pm 0,027 - 0,614 \pm 0,023$ у ремонтного молодняка). У семи исследованных популяций свиней в Украине были выявлены следующие частоты аллеля В - $0,15 \pm 0,027 - 0,568 \pm 0,025$ среди племенных свиноматок, $0,500 \pm 0,026 - 0,58 \pm 0,029$ - в товарных хозяйствах в среднем по стаду.

Abstract

PCR RFLP revealed a wide variation in the level of alleles and genotypes of ESR gene in all 11 studied populations of pigs of Large white breed contained in the Ukraine and Belarus. The vast majority of the populations studied is characterized by high heterozygosity than expected theoretically. Found differences in allele frequencies and genotype ESR genes between different groups of animals, even within the same industry. In four investigated Belarus pigs populations ESR gene generally have a wide span of frequencies of allele B (from $0,08 \pm 0,026$ to $0,40 \pm 0,085$ boars, $0,179 \pm 0,024 - 0,500 \pm 0,014$ in sows, $0,143 \pm 0,027 - 0,614 \pm 0,023$ of replacement chickens). Seven of the populations of pigs in Ukraine identified the following allele frequencies in - $0,15 \pm 0,027 - 0,568 \pm 0,025$ in breeding sows, $0,500 \pm 0,026 - 0,58 \pm 0,029$ - in the commercial farms on average per herd.

Ключови думи: свине, Голяма бяла, QTL, хетерозиготност, естроген рецепторен ген, ESR.

Ключевые слова: Крупная белая порода, QTL, гетерозиготность, ген рецептора эстрогена, ESR.

Key words: Large white breed, QTL, heterozygosity of the estrogen receptor gene, ESR.

ВВЕДЕНИЕ

Ген рецептора эстрогена - один из первых и главных генов, полиморфизм которого связан с репродуктивными качествами, как свиноматок, так и хряков. В Украине и в Беларуси исследования по этому гену все еще носят спорадический характер и не охватывают основного поголовья животных, неисследованными остаются популяционно-генетические процессы, происходящие в связи с отбором животных (Saenko and Balatskiy, 2009).

В связи с этим, целью нашей работы было проведение мониторинга популяций Крупной белой породы свиней в Украине и Беларуси по гену рецептора эстрогена (ESR).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проводили определение генотипов популяций свиней крупной белой породы, содержащихся в следующих хозяйствах Беларуси: ЧУП "Золак-Агро" Гомельской обл. ($n = 120$), С/к «Яжевичи», г. Клецк ($n = 198$), ЗАО "Советская Беларусь" ($n = 97$), РСУП С/к «Багратионовский» ($n = 179$), и Украины: ОАО «Маки», с. Макеевка, Белоцерковского р-на Киевской обл. ($n = 25$); СП ООО «Нива Переяславщины», Переяслав-Хмельницкого района Киевской обл. ($n = 36$), ООО «Шпили» Иванковского р-на Киевской обл. ($n = 47$), СОО «Агрокомбинат Калита», Броварского р-на Киевской обл. ($n = 73$); учебно-исследовательское хозяйство «Агростанция Митница» НУБиП Украины ($n = 30$), ОАО «Агрикор» Борзнянского района Черниговской обл. ($n = 31$).

Определение генотипов животных проводили в: 1) лабораториях генетики животных Института генетики и цитологии НАН Беларуси г. Минск, 2) Украинской лаборатории качества и безопасности продукции АПК НУБиП Украины (с. Чабаны), 3) Института разведения и генетики животных НААН (с. Чубинское).

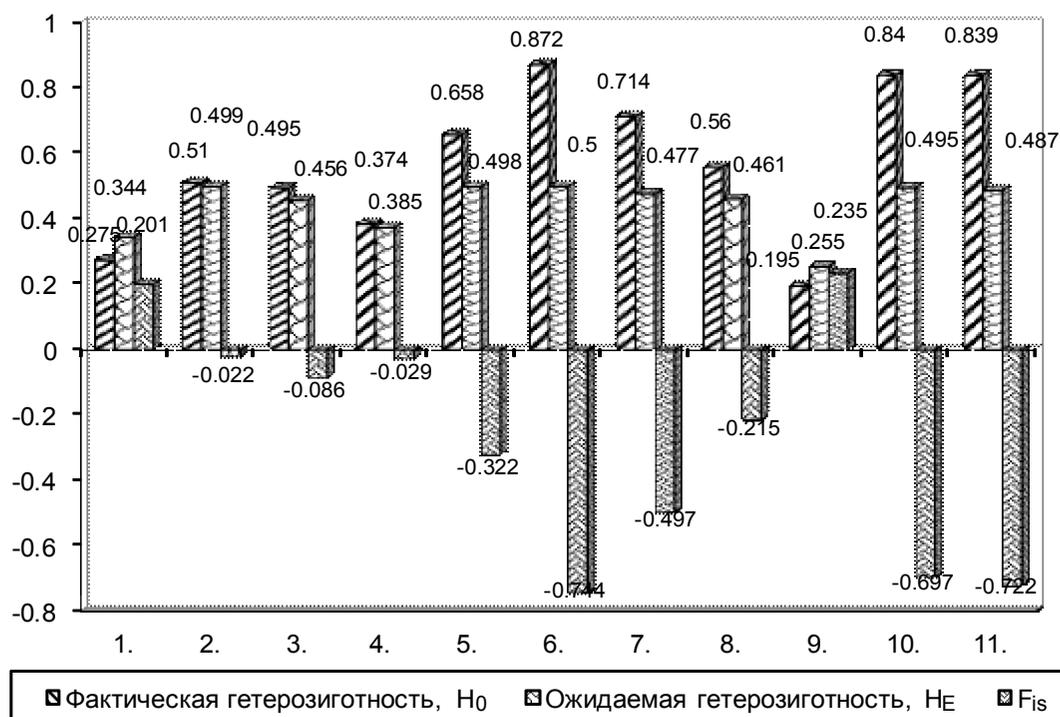
Геномная ДНК свиней была выделена с помощью комплекта реактивов «ДНК-сорб В»

(АмплиСенс, Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Анализ полиморфизма исследованных генов проводили методом ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция, полиморфизм длин рестриционных фрагментов) по методикам, описанным в "Metodicheskie rekomendatsii" (2011). Рестрикцию продуктов ПЦР проводили при использовании эндонуклеазы *Pvu II* согласно рекомендациям производителя. Визуализацию электрофореграмм проводили с помощью трансиллюминатора в УФ свете. Статистическую обработку результатов осуществляли путем анализа распределения аллельных и генотипических частот, отклонения от состояния равновесия согласно закону Харди-Вайнберга (Zhivotovskiy, 1991)).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ соответствия полученных нами частот генотипов с их теоретически ожидаемым распределением согласно закону Харди-Вайнберга свидетельствует о том, что часть из исследованных популяций характеризуются достоверно высокой частотой гетерозигот ($p < 0,001$). Интересно, что самый высокий показатель отклонения (χ^2) был характерен для товарных стад, крупной белой породы («Агростанция Митница», «Агрикор»). Это может быть обусловлено отсутствием линейного разведения, которое в племенных хозяйствах приводит к высокому уровню гомозиготности.

Гетерозиготность – один из основных параметров динамики генетического состава популяции. На ее изменение влияет целый ряд факторов: мутационный, отбор, дрейф генов (Zhivotovskiy, 1991)). В связи с этим, оценка гетерозиготности актуальна для популяционно-генетических исследований. Для количественного отражения отклонения частот гетерозиготных генотипов от теоретически ожидаемого мы рассчитывали индекс фиксации Райта (*F_{is}*), который отображен на рисунке 1.



1	ЧУП "Золак-Агро"	7.	Терминальная <i>alba</i> , СОАО АК «Калита»
2.	С/к «Яжевичи»	8.	ОАО «Маки»
3.	РСУП ЗАО «Советская Беларусь»	9.	СП ООО «Нива Переяславщины»
4.	С/к «Багратионовский»	10.	ОАО «Агростанция Митница»
5.	СОАО АК «Калита»	11.	ОАО «Авангард»
6.	ООО «Шпили»		

Фиг. 1. Гетерозиготность на исследованные популяции и коэффициент на инбридинг по Райт (F_{is})

Рис. 1. Гетерозиготность исследованных популяций и индекс фиксации Райта (F_{is})

Fig. 1. Heterozygosity of the investigated populations and inbreeding coefficient of Wright (F_{is})

Относительно исследованных нами племенных хозяйств следует отметить, что наибольшее отклонение от теоретически ожидаемого распределения (критерий $\chi^2 = 7,57$) характерно для популяций свиней СОАО «АК «Калита». Это может свидетельствовать о наличии отбора в пользу гетерозигот ($F_{is} = -0,322$), поскольку по нашим данным, гетерозиготы *AB* по гену *ESR* имеют преимущества как для воспроизводительных, так и для откормочных качеств. Хряки, носители генотипов *BB* и *AB*, пород Крупная белая и Ландрас характеризовались лучшими показателями по сравнению с гомозиготными особями *AA* по объему якулята, концентрации и количеству сперматозоидов в якуляте. Свиноматки Крупной белой породы генотипа *AB* имели на 4,04 мм выше показатели по толщине шпика нежели носители генотипа *BB* ($p < 0,01$) (Sidorenko, 2011).

Следует отметить, что обнаруженное отклонение в СОАО «АК Калита» было характерно и для

Крупной белой породы, и для ее терминального кросса *alba*.

В исследованных популяциях свиней по гену *ESR* мы наблюдали высокую фактическую (H_0) гетерозиготность по сравнению с теоретической (H_e) (рис. 1), разброс которой колебался от 0,385 (С/к «Багратионовский») до 0,872 (ООО «Шпили»), 0,714 и 0,658 (крос *alba*, и Крупная белая) СОАО «АК Калита». В связи с этим, индекс фиксации Райта (F_{is}), в подавляющем большинстве исследованных популяций, имел отрицательное значение. Только у свиней популяций С/к «Яжевичи» (-0,022), ЧУП «Золак-Агро» (0,201), С/к «Багратионовский» (-0,029, свиноматки) СП ООО «Нива Переяславщины» (0,235, свиноматки) выявлены более сбалансированные показатели фактической и ожидаемой гетерозиготности по сравнению с другими исследованными нами популяциями.

Высокая гетерозиготность в исследованных нами популяциях свидетельствует о том, что в селекционной работе происходит постоянный отбор животных, изменяется генетическая структура стад в желаемом для производства направлении, в частности отбор свиноматок производится по более высоким показателям многоплодия. Таким образом, увеличивается количество носителей аллеля *B* гена *ESR*. Кроме этого, в хозяйствах проводится работа, направленная на получение эффекта гетерозиса: использование межлинейных гибридов (терминальные хряки *alba*) в качестве производителей. Подавляющее большинство исследованных нами хряков являются гетерозиготными по гену *ESR*. В среднем, в стадах исследованных популяций племенных свиней частота аллеля *B* гена *ESR* колеблется в пределах от $0,150 \pm 0,027$ (СП ООО «Нива Переяславщины») до $0,534 \pm 0,020$ (СОАО «АК» Калита»), а частота аллеля *B* гена *ESR* терминального кросса *alba* этого же предприятия достигает $0,60 \pm 0,030$. Существенными оказались различия по частотам аллелей и генотипов между различными группами исследованных животных в некоторых хозяйствах. Так, в ЧУП «Золак-Агро» частота аллеля *B* в выборке основных свиноматок оказалась самой высокой в стаде и составила $0,325 \pm 0,025$, в ремонтном — $0,143 \pm 0,027$, а у хряков — $0,08 \pm 0,026$. В связи с тем, что у хряков низкая частота аллеля *B*, а группа ремонтных свиноматок характеризуется промежуточным значением этого показателя, можно сделать вывод, что из ремонтного стада в основную группу отбирались животные с желательными генотипами, а производители в данном случае оказались такими, что могут ухудшать у потомков репродуктивные качества.

Поголовье свиней С/к Яжевичи характеризуется более высокой частотой аллеля *B* у всех исследованных групп животных. Очевидно, что анализ групп животных, осуществляемый не в течение определенного периода, а одновременно, позволяет лишь сделать некоторые прогнозы и не может в полной мере оценить вклад в генофонд исследованного нами ремонтного стада животных, которые на время изучения уже выбыли.

Четыре исследованные популяции свиней Беларуси по гену *ESR*, в целом характеризуются широким размахом частот аллеля *B*: от $0,08 \pm 0,026$ до $0,40 \pm 0,085$ у хряков, $0,179 \pm 0,024$ - $0,500 \pm 0,014$ у основных свиноматок, $0,143 \pm 0,027$ - $0,614 \pm 0,023$ у ремонтного молодняка. У семи исследованных популяций свиней в Украине определили следующие частоты аллеля *B* гена рецептора эстрогена: $0,15 \pm 0,027$ - $0,568 \pm 0,025$ среди племенных свиноматок, $0,500 \pm 0,026$ - $0,58 \pm 0,029$ - в товарных хозяйствах в среднем

по стаду. Следует отметить, что среди исследованных хряков хозяйств Украины в отличие от популяций Беларуси были обнаружены животные с генотипом *BB*. Различия между исследованными популяциями могут свидетельствовать о различных направлениях отбора в хозяйствах. Высокие показатели частот аллеля *A*, характерные для животных Беларуси, могут быть связаны с мясным направлением продуктивности исследованных животных. Ведь известно, что колебания частоты аллеля *B* в популяциях Крупной белой породы составляет $0,30$ - $0,49$ (Sidorenko, 2011; Short et al., 1997; Terman et al., 2006; Zhurina, 2006), а у породы Ландрас, например, $0,06$ - $0,20$ (Kmiec et al., 2002; Humpolíček et al., 2007).

ВЫВОДЫ

1. Выявлен широкий уровень вариативности частот аллелей и генотипов гена *ESR* во всех 11 исследованных популяциях свиней Крупной белой породы, содержащихся в Украине и Беларуси.
2. Подавляющее большинство из исследованных популяций свиней характеризуется высокой фактической (H_o) гетерозиготностью по сравнению с теоретически ожидаемой. Найдены различия по частотам аллелей и генотипов гена *ESR* между различными группами животных даже в пределах одного хозяйства.
3. Четыре исследованные популяции свиней Беларуси по гену *ESR* в целом характеризуются широким размахом частот аллеля *B* (от $0,08 \pm 0,026$ до $0,40 \pm 0,085$ у хряков, $0,179 \pm 0,024$ - $0,500 \pm 0,014$ у основных свиноматок, $0,143 \pm 0,027$ - $0,614 \pm 0,023$ у ремонтного молодняка).
4. У семи исследованных популяций свиней в Украине были выявлены следующие частоты аллеля *B* - $0,15 \pm 0,027$ - $0,568 \pm 0,025$ среди племенных свиноматок, $0,500 \pm 0,026$ - $0,58 \pm 0,029$ - в товарных хозяйствах в среднем по стаду.
5. Перспективы дальнейших исследований в этой области на наш взгляд заключаются в продолжении мониторинга популяций различных пород по генам, полиморфизм которых ассоциируется с продуктивностью животных.

LITERATURA

- Saenko, A. M., V. M. Balatsykiy, 2009. Polimorfizm QTL-geniv v porodah sviney riznogo napryamu produktivnosti. Naukoviy visnik. NUBiP Ukraini.- K, № 138: 272-279.
- Metodicheskie rekomendatsii po identifikatsii allelynih variantov genov, vliyayushtih na hozyaystvenno-poleznûe priznaki Sus scrofa: Metodicheskoe posobie, 2011. /O.M. Konoval, N.A. Kamish, I.S. Boyarintseva,



- N.M.Volchok, E.A.Klimov, V.G.Spiridonov, M.E. Mihaylova, M.S. Krasnov, S.D.Melynichuk, G.Yu.Kosovskiy/. Moskva, 33 s.
- Zhivotovskiy, L. A., 1991. Populyatsionnaya biometria. M., Nauka, 271 s.
- Sidorenko, O. V., 2011. Polimorfizm geniv retseptoriv estrogenu (ESR) i melanokortinu-4 (MC4R) u sviney: avtoref. dis. na zdobuttya nauk. stupenya kand. s.-g. nauk spets, 03.00.15 «Genetika», Chubinskye, 20 s.
- Short, T. H., M. F. Rothschild, O. I. Southwood, D. G. McLaren, A. de Vries, H. van der Steen, G. R. Eckardt, C. K. Tuggle, J. Helm, D. A. Vaske, A. J. Mileham and G. S. Plastow, 1997. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. J. of Anim. Sci., Vol. 75: 3138-3142.
- Terman, A., M. Kmies, D. Polasik, 2006. Estrogen receptor gene (ESR) and semen characteristics of boars. Arch. Tierz., Dummerstorf, Vol. 49, № 1: 71-76.
- Zhurina, N. V., 2006. Vliyanie gena estrogenovogo retseptora na reproduktivnie priznaki svinomatok krupnoy beloy i beloruskoy myasnoy porod. Vestsi natsiyanalynay akademii navuk Belarusi, № 4: 71-74.
- Kmies, M., J. Dvorak, I. Vrtkova, 2002. Study on a relation between estrogen receptor (ESR) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed. Czech J. Anim. Sci., Vol. 47, № 5: 189-193.
- Humpolíček, P., T. Urban, V. Matoušek, Z. Tvrdý, 2007. Effect of estrogen receptor, follicle stimulating hormone and myogenin genes on the performance of Large White sows. Czech J. Anim. Sci., vol. 52, № 10: 334-340.

Благодарности

Работа проведена при поддержке Государственного фонда фундаментальных исследований Украины.

**Преводът на български език е направен от проф. д-р Васил Николов.

Статията е приета на 12.12.2012 г.
Рецензент – проф. д-рн Алекси Стойков
E-mail: astoykov@gbg.bg