

## АССОЦИАЦИЯ ГЕНА ЭСТРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА С РЕПРОДУКТИВНЫМИ ПРИЗНАКАМИ СВИНОМАТОК БЕЛОРУССКОЙ МЯСНОЙ И КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОД

И.П. ШЕЙКО, доктор сельскохозяйственных наук

Н.В. ЖУРИНА

Т.И. ЕПИШКО, кандидат сельскохозяйственных наук

О.П. КУРАК, кандидат сельскохозяйственных наук

М.А. КОВАЛЬЧУК, О.А. ЕПИШКО

РУП «Институт животноводства НАН Беларуси»

**Реферат.** Исследован полиморфизм гена эстрогенового рецептора (ESR) свиноматок пород: крупная белая (КБ), белорусская мясная (БМ) и дюрок (Д), разводимых в РСУП «СГЦ «Заднепровский». Аллель ESR<sup>B</sup> выявлен у пород крупная белая и белорусская мясная. У свиноматок породы дюрок данный аллель не найден. Подсчитаны частоты встречаемости аллелей и генотипов. Проанализировано генное равновесие в популяциях. Выявлена тенденция положительного влияния аллеля ESR<sup>B</sup> на общее количество родившихся, количество живорожденных поросят и массу живорожденных поросят.

**Ключевые слова:** ДНК-маркер, ген эстрогенового рецептора (ESR), полиморфизм, аллель, частота аллелей, частота генотипов, гомозигота, гетерозигота, репродуктивные признаки.

**Введение.** Репродуктивные признаки, особенно многоплодие и сохранность поросят, являются одними из наиболее важных экономических показателей в свиноводстве. Из-за низкого уровня наследуемости и ограниченного полом проявления данных признаков классическими методами селекции нельзя добиться быстрого и значительного генетического прогресса. Однако с развитием молекулярной генетики стала возможной идентификация главных генов, либо сцепленных с ними маркерных генов, влияющих на определённые признаки продуктивности. Выявление таких генов и изучение их влияния на селекционно-значимые признаки позволит использовать ДНК-маркеры в селекции и повысить экономическую эффективность отрасли.

Одним из наиболее часто используемых в селекционной зарубежной практике генов, влияющих на воспроизводительные признаки, является ген эстрогенового рецептора (ESR). Это обусловлено ключевой ролью эстрогенов и их рецепторов в репродуктивном процессе свиней. С ними связано развитие вторичных половых признаков, они контролируют овариальные и эстральные циклы, влияют на развитие плаценты, определяют половое поведение самок, стимулируют биосинтез ряда белков, жиров, гликогена [3, 9, 11]. Относительно большое количество эстрогенов образуется в организме самцов. Данные гормоны влияют на деятельность придаточных половых желез, проявление поло-

вых рефлексов, обладают анаболическим действием [7].

Lehrer S. и др. сообщают о том, что мутация гена, кодирующего эстрогеновый рецептор, является причиной спонтанных абортс и рака грудной железы у человека [13]. Kogach K.S. и др. наблюдали значительные фенотипические изменения в репродуктивной системе трансгенных мышей с нефункционирующим геном ESR [16]. У свиней полиморфизм гена эстрогенового рецептора впервые был описан Rothschild M.F. и др. [17]. Было установлено положительное влияние аллеля ESR<sup>B</sup> данного гена на репродуктивные признаки свиноматок, принадлежащих к линии с 50 % крови мейшан. Животные с генотипом ESR<sup>BB</sup> превосходили животных с генотипом ESR<sup>AA</sup> на 2,3 поросёнка по первому опоросу ( $P < 0,01$ ) и на 1,5 поросёнка в среднем по всем опоросам ( $P < 0,01$ ). В этом же исследовании был идентифицирован аллель ESR<sup>B</sup> у свиней синтетической линии корня крупной белой породы. При этом превосходство свиноматок ESR<sup>BB</sup> над свиноматками ESR<sup>AA</sup> составило 1,2 ( $P < 0,05$ ) и 0,9 ( $P < 0,01$ ) поросёнка по первому и в среднем по всем опоросам соответственно [18]. Данные результаты были подтверждены на 4262 свиноматках крупной белой породы из четырёх коммерческих линий. От свиноматок с генотипом ESR<sup>BB</sup> было получено на 0,8 и 0,6 поросёнка больше, чем от свиноматок ESR<sup>AA</sup> в первом и последующих опоросах соответственно [21]. Однако наряду с исследованиями, свидетельствующими о положительном влиянии аллеля ESR<sup>B</sup> на продуктивность свиноматок [1, 4, 5], существуют и другие данные, указывающие на противоположную закономерность [22, 23], либо на отсутствие значимой связи гена ESR с репродуктивными качествами [12, 14, 15]. Возможно, такие противоречивые результаты исследований являются следствием того, что большинство из них проводилось на малом количестве животных.

В связи с этим, целью нашего исследования явилось изучение и анализ генетической структуры пород белорусская мясная и крупная белая, разводимых в РСУП «СГЦ «Заднепровский», по гену ESR и выявление его влияния на репродуктивные признаки свиноматок.

**Материалы и методика исследований.** Для изучения полиморфизма гена ESR было протестировано 855 свиноматок пород: крупная белая, белорусская мясная и дюрок, разводимых в РСУП «СГЦ «Заднепровский» Оршанского района.

Ядерную ДНК выделяли из ткани уха свиней по стандартной методике с собственными модификациями. Концентрацию и нативность ДНК определяли электрофоретическим методом в 1%-ном агарозном геле. Визуализировали ДНК на трансиллюминаторе в проходящем УФ-свете с длиной волны 260 нм с помощью компьютерной видеосистемы.

Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали

праймеры ESR1 и ESR2. Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 1х буфер, 2мМ дидоксирибонуклеотидтрифосфатов (0,5мМ каждого), 15пМ каждого праймера, 1,5 ед. активности термостабильной Taq-полимеразы, 100-200нг геномной ДНК.

Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 2%-ном агарозном геле. Визуализировали ДНК на трансиллюминаторе в проходящем УФ-свете с длиной волны 260 нм с помощью компьютерной видеосистемы. В качестве маркера использовали ДНК плазмиды pBR322, расщеплённую рестриктазой AluI. 10 мкл амплификата расщепляли рестриктазой PvuII при температуре 37°C в течение 3-4 часов. Продукты рестрикции разделяли электрофоретически в 4%-ном агарозном геле. Для анализа распределения рестрикционных фрагментов ДНК в агарозном геле после электрофореза использовали компьютерную видеосистему и программу VItran.

Частоту генотипов и аллелей рассчитывали стандартными методами. Генное равновесие в популяции определяли по закону Харди-Вайнберга [2, 8].

**Результаты эксперимента и их обсуждение.** В результате молекулярно-генетического тестирования 390 свиноматок белорусской мясной и 406 крупной белой пород, а также 59 свиноматок породы дюрок был выявлен полиморфизм гена ESR у пород белорусская мясная и крупная белая (табл. 1).

Таблица 1  
Генетическая структура популяций свиноматок различных пород по гену ESR

Порода	n	Рас- преде- ление	Частота генотипов, %			Частота ал- лелей		$\chi^2$
			AA	AB	BB	A	B	
БМ	390	Н	60	31,54	8,46	0,76	0,24	7,76**
		О	57,76	36,48	5,76			
КБ	406	Н	24,63	59,61	15,76	0,54	0,46	16,50***
		О	29,16	21,16	49,68			
Д	59		100	-	-	1	-	

\*\* -  $P < 0.01$ ; \*\*\* -  $P < 0.001$

Частота встречаемости аллеля В гена ESR была выше у животных крупной белой породы (0,46) по сравнению с белорусской мясной (0,24), что, по-видимому, объясняется различным направлением продуктивности пород. Это соответствует данным полученным российскими учёными, согласно которым большинство мясных пород свиней характеризуются относительно низкой частотой встречаемости аллеля ESR<sup>B</sup> [6]. Концентрация аллеля ESR<sup>A</sup> у исследуемых пород составила: 0,54 – у крупной белой, 0,76 – у белорусской мясной, 1 – у дюрок. Анализ распределения генотипов в выборке свиноматок крупной бе-

лой породы позволил установить достоверное ( $P < 0,001$ ) различие между наблюдаемыми и ожидаемыми частотами генотипов. При этом генетическое равновесие было смещено в сторону преобладания гетерозиготных ( $ESR^{AB}$ ) особей, в то время как частота гомозиготных генотипов была ниже ожидаемой. Такая же картина наблюдалась и в популяции белорусской мясной породы. Повышенная концентрация гетерозигот в обеих популяциях, вероятно, связана с хорошо известным фактом их лучшей адаптационной способности [2, 20].

При тестировании породы дюрок полиморфизм гена  $ESR$  не выявлен. Все особи были гомозиготны по аллелю  $ESR^A$ . Это согласуется с данными ряда учёных, согласно которым порода дюрок мономорфна [1, 20] по гену  $ESR$ , либо характеризуется низкой частотой (0,046) аллеля  $ESR^B$  [5].

При изучении ассоциации гена  $ESR$  с репродуктивными признаками свиноматок установлена тенденция положительного влияния аллеля  $ESR^B$  на такие важные показатели, как общее количество родившихся, количество живорожденных поросят и масса живорожденных поросят. Анализ данных второго и последующих опоросов показал, что по общему количеству родившихся поросят свиноматки белорусской мясной и крупной белой пород с генотипом  $ESR^{BB}$  превосходили животных с генотипом  $ESR^{AA}$  на 0,68 и 0,57 поросёнка соответственно (рис. 1).

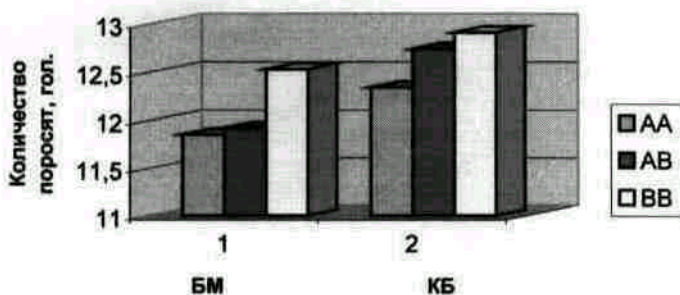


Рис. 1 Общее количество родившихся поросят в зависимости от генотипа свиноматок по гену  $ESR$ .

Данная тенденция сохранялась и по количеству живорожденных поросят (рис. 2). В гнёздах свиноматок белорусской мясной породы с генотипом  $ESR^{BB}$  насчитывалось в среднем 12,01, а с альтернативным гомозиготным генотипом – 11,23 живых поросёнка. Крупная белая порода характеризовалась сходными показателями: 12,41 живых поросят у гомозигот  $ESR^{BB}$  и 11,69 – у  $ESR^{AA}$ .

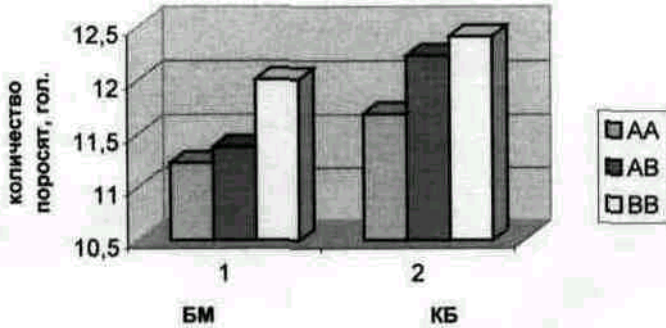


Рис. 2. Количество живых поросят в гнезде свиноматок с различными генотипами по гену ESR.

Установлено положительное влияние аллеля  $ESR^B$  на массу живых поросят при рождении (Рис. 3). Гнезда свиноматок белорусской мясной и крупной белой пород генотипа  $ESR^{BB}$  были тяжелее по сравнению с гнездами свиноматок  $ESR^{AA}$  на 0,38 и 0,09 кг соответственно.

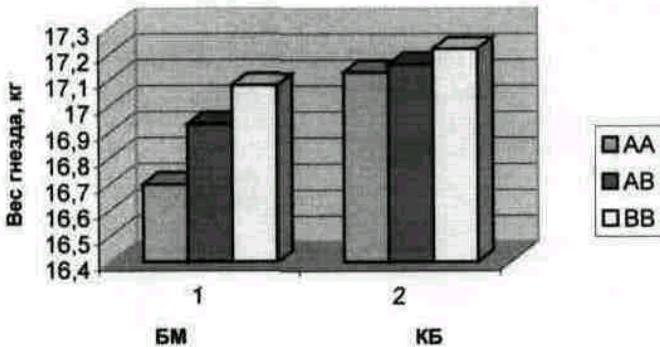


Рис. 3. Масса гнезда живых поросят в зависимости от генотипов свиноматок по гену ESR.

Показатели продуктивности гетерозиготных особей занимали промежуточное положение между показателями гомозигот.

**Выводы.** При изучении генетической структуры популяций свиноматок различных пород, разводимых в РСУП «СГЦ «Заднепровский», были установлены различия по частоте встречаемости желательного аллеля  $ESR^B$  на межпородном уровне. Наибольшей частотой данного аллеля характеризовалась крупная белая порода, у свиноматок белорусской мясной породы этот показатель был несколько ниже, а у породы дюрок аллель  $ESR^B$  вовсе отсутствовал. При этом в популяци-

ях наблюдалось смещение генного равновесия в сторону численного преобладания гетерозиготных особей, что связано с их преимущественной адаптационной способностью, с одновременным снижением количества обеих гомозигот.

Анализ взаимосвязи гена ESR с репродуктивными признаками свиноматок пород белорусская мясная и крупная белая обнаружил тенденцию положительного влияния аллеля ESR<sup>B</sup> на общее количество родившихся, в том числе живых поросят и их массу. Для установления достоверных ассоциаций требуется проведение дальнейших исследований.

### Литература

1. Характеристика популяции свиней ООО «Гроснянский бекон» Орловской области по генетическим маркерам / В. А. Адаменко [и др.] // Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки : сб. науч. тр. по материалам междунар. науч.-прикт. конф. (7-10 сент. 2004 г.). Вып. 62, ч. 2. – Дубровицы, 2004.
2. Алтухов, Ю. П. Генетические процессы в популяциях / Ю. П. Алтухов. – М. : Академкнига, 2003. – 431 с.
3. Вундер, П. А. Эндокринология пола и размножения / П. А. Вундер. – М. : Медицина, 1973. – 216 с.
4. Зиновьева, Н. А. Оценка животных по генетическим маркерам / Н. А. Зиновьева [и др.] // Промышленное и племенное свиноводство. – 2005. – № 2. – С. 18-20.
5. Зиновьева, Н. А. Исследование полиморфизма гена эстрогенового рецептора как маркера плодовитости свиней / Н. А. Зиновьева [и др.] // Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки : сб. науч. тр. по материалам междунар. науч.-прикт. конф. (7-10 сент. 2004 г.). Вып. 62, ч. 2. – Дубровицы, 2004.
6. Характеристика генофонда ливенской породы свиней по некоторым ДНК-маркерам / Н. А. Зиновьева [и др.] // Промышленное и племенное свиноводство. – 2005. – № 3. – С. 28-30.
7. Левин, К. Л. Физиология воспроизводства свиней / К. Л. Левин. – М. : Росагроиздат, 1990. – 255 с.
8. Меркурьева, Е. К. Генетика с основами биометрии / Е. К. Меркурьева, В. Н. Березовский, Г. Н. Шангин. – М. : Колос, 1983. – 357 с.
9. Розен, В. Б. Основы эндокринологии : учеб. пособие / В. Б. Розен. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. шк., 1984. – 336 с.
10. Сердюк, Г. Н. Иммуногенетика свиней: теория и практика / Г. Н. Сердюк. – СПб. : ЛексСтар, 2002. – 390 с.
11. Эскин, И. А. Основы физиологии эндокринных желез : учеб. пособие / И. А. Эскин. – 2-е изд. – М. : Высш. шк., 1975. – 304 с.
12. Association study of an AvaI and PvuII polymorphism at the porcine estrogen receptor (ESR) gene, with litter size / J. Depuydt [et al.] // Archiv fur Tierzucht. – 1999. – Vol. 42. – P. 172-174.
13. Lehrer, S. [et al.] // Lancet. – 1990. – N 335. – P. 622-624.
14. Study on four candidate genes of litter size in Min pig / Li-Jing [et al.] // J. of Shanghai Jiotong Univ. Agr. Sc. – 2004. – Vol. 22, N 1. – P. 74-77.
15. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine / R. C. Linville [et al.] // J. Anim. Sc. – 2001. – Vol. 79. – P. 60.
16. Korach, K. S. // Science. – 1994. – N 266. – P. 1524-1527.
17. PvuII polymorphisms at the porcine estrogen receptor locus (ESR) / M. F. Rothschild [et al.] // Anim. Genet. – 1991. – N 22. – P. 448-449.
18. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in

pigs / M. Rothschild [et al.] // J. Genetics. – 1996. – Vol. 93. – P. 201-205.

19. A major gene for litter size in pigs / M. F. Rothschild [et al.] // Proc. 5<sup>th</sup> World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod. – 2004. – Vol. 22. – P. 448.

20. Russo, V. Analysis of single nucleotide polymorphisms in major and candidate genes for production traits in Nero Siciliano pig breed / V. Russo [et al.] // Ital J. Anim. Sc. 2004. – Vol. 3. – P. 19-29.

21. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines / T. H. Short [et al.] // J. Anim. Sc. – 1997. – Vol. 75, № 12. – P. 3138 – 3142.

22. Southwood, O. I. Evaluation of the estrogen receptor (ESR) gene in Meishan synthetic and Large White pigs / O. I. Southwood [et. al.] // Proceedings of the European Association of Animal Production. – 1995. – Prague.

23. Van Rens, B. T. T. M. The effect of estrogen receptor genotype on litter size and placental traits at term in F2 crossbred gilts / B. T. T. M. Van Rens // J. Theriogenology. – 2002. – N 57. – P. 1635-1649.

УДК 636.4.082:612.8:577.113.1

## **АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ БЕЛОРУССКОЙ ЧЁРНО-ПЁСТРОЙ ПОРОДЫ ПО ЛОКУСУ ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА И НАЛИЧИЮ МУТАЦИИ VLAD**

И.П. ШЕЙКО, доктор сельскохозяйственных наук  
О.П. КУРАК, кандидат сельскохозяйственных наук  
Т.И. ЕПИШКО, кандидат сельскохозяйственных наук  
РУП «Институт животноводства НАН Беларуси»  
Н.Ф. ЖУК, кандидат сельскохозяйственных наук  
Л.В. ЕВТУШЕВСКАЯ  
РСУП «Брестплемпредприятие»

**Реферат.** Проведено ДНК-тестирование популяций быков-производителей белорусской чёрно-пёстрой породы по локусу гена каппа-казеина (CSN3) и наличию мутации VLAD методом ПЦР-ПДРФ. Проанализирована генетическая структура исследованных популяций по данным локусам. Проведён расчёт генного равновесия по гену каппа-казеина. Выявлены животные-носители мутации VLAD.

**Ключевые слова:** крупный рогатый скот, метод ПЦР-ПДРФ, каппа-казеин (CSN3), мутация VLAD.

**Введение.** Успех селекционно-племенных программ в значительной мере зависит от точности определения племенной ценности животных. Традиционные методы оценки животных, основанные на фенотипических показателях родителей и потомков, на современном этапе не могут в полной мере удовлетворить требования, предъявляемые к селекции. На показатели хозяйственно-полезных признаков оказывают влияние как паратипические, так и генотипические факторы. До