

КОСТЕНКО С.О., канд. біол. наук, swetakostenko@mail.ru

Національний університет біоресурсів і природокористування України

ДРАГУЛЯН М.В., наук. співробітник

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

СИДОРЕНКО О.В., канд. с.-г. наук

Інститут розведення і генетики тварин НААН України

ОСОБЛИВОСТІ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ *ESR*, *NCOA1*, *PRLR*, *FSHR* У СВИНЕЙ РІЗНИХ ПОРІД

Виявлено особливості поліморфізму та частоти алелів і генотипів у свиней порід велика біла, ландрас, українська м'ясна, уельська за генами рецепторів естрогену (*ESR*), пролактину (*PRLR*), фолікулостимулювального гормону (*FSHR*) та ядерного коактиватора A1 (*NCOA1*). Індекс фіксації Райта виявився позитивним для усіх досліджених генів, крім рецептора естрогену.

Ключові слова: *Sus scrofa*, свиня свійська, ландрас, велика біла порода, уельська порода, українська м'ясна порода, ген рецептора естрогену, ген рецептора пролактину, ген ядерного коактиватора A1, поліморфізм, *ESR*, *NCOA1*, *PRLR*, *FSHR*.

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. Однією з причин, що зумовлює низький рівень успадковування репродуктивних якостей свиней, є високий рівень поліморфізму популяцій цих тварин за широким спектром генів. Так, на березень 2013 року відомо 782 локуси, пов'язані з репродуктивними якостями свиней [1]. Полігенне успадкування репродуктивних якостей залишається мало вивченим з погляду комплексного впливу генотипів різних генів. Мало відомі закономірності розподілу генотипів і алелів генів у популяціях різних порід, у тому числі в Україні. Тому **метою роботи** було виявлення поліморфізму свиней порід українська м'ясна, уельська, ландрас і велика біла і термінальної лінії альба за генами рецептора естрогену (*ESR*), коактиватора A1 ядерних рецепторів (*NCOA1*), рецептора пролактину (*PRLR*) і фолікулостимулювального гормону (*FSHR*).

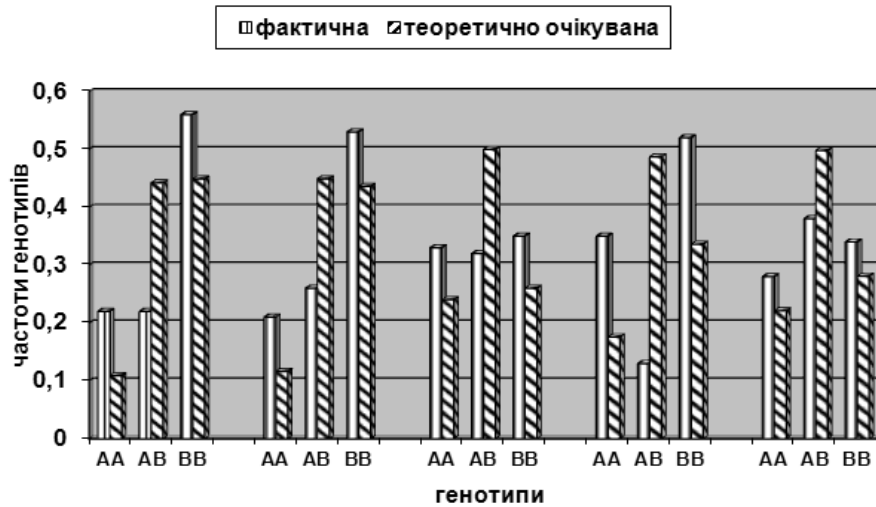
Матеріал і методика дослідження. Досліджували племінних тварин таких порід: велика біла (44 свиноматки, 29 кнурів), ландрас (38 свиноматок, 17 кнурів), українська м'ясна (72 свиноматки, 9 кнурів), уельська (125 свиноматок, 10 кнурів) і термінальна лінія альба (14 свиноматок, 12 кнурів). Геномну ДНК виділяли з волоссяних фолікулів за допомогою реактивів «ДНК-сорб В» (АмпліСенс, Росія).

Дослідження поліморфізму генів *ESR*, *NCOA1*, *PRLR* проводили методом ПЛР-ПДРФ [2–4]. Для ректрикції гена *ESR* використовували рестриктазу *Pvu II*, *PRLR* – *Alu I*. Поліморфізм гена *FSHR* визначали методом Bi-Passa (без рестрикції) [5]. Візуалізацію довжин рестриктних фрагментів здійснювали методом електрофорезу в агарозному гелі.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати генотипування тварин та дані щодо гетерозиготності представлено на рисунках 1–8. Показники поліморфізму гена рецептора пролактину (рис. 1) свідчать про те, що усі досліджені нами популяції були поліморфними. Бажаним генотипом гена *PRLR* вважається *AA*. У порід ландрас і термінальна альба частота генотипу *AA* виявилась найнижчою, а у порід велика біла та української м'ясна – найвищою. Частота алеля *A* найвищою була у свиней породи велика біла і найменшою – у породи ландрас. Гетерозиготні тварини (*AB*) частіше зустрічались в уельської породи. Порівняння реального і теоретично очікуваного розподілу частот генотипів гена рецептора пролактину згідно із законом Харді-Вайнбера показало статистично достовірні відмінності для усіх досліджених груп тварин. Аналіз тварин породи ландрас, проведений в Бразилії [6] та Польщі [7], свідчить про те, що частота генотипу *AA* коливається в межах 0,14–0,59. Для породи велика біла була характерна частота генотипу *AA* 0,23 [6]–0,56 [8]. Відтак, отримані нами дані узгоджуються з результатами інших авторів.

Фактичну, теоретично очікувану гетерозиготність популяцій та індекс фіксації Райта за геном рецептора пролактину представлено на рисунку 2.

Частоти генотипів гена PRLR



	Ландрас	Термінальна альба	Велика біла	Українська м'ясна	Уельська
χ^2	13,89***	4,60*	6,34*	38,90***	6,75**

Примітка. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ (різниця між фактичним і очікуваним розподілом генотипів відповідно до закону Харді-Вайнберга)

Рис. 1. Частоти генотипів гена рецептора пролактину у свиней різних порід.

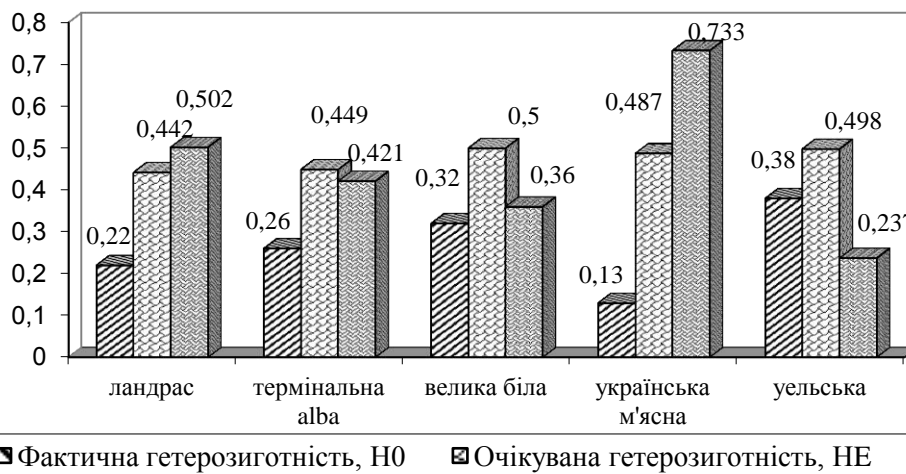


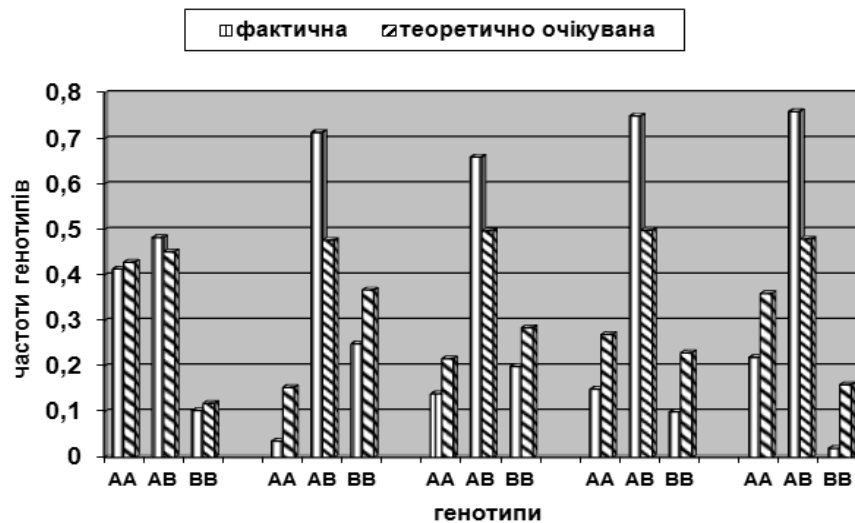
Рис. 2. Фактична та теоретично очікувана гетерозиготність популяцій за геном рецептора пролактину та індекс фіксації Райта.

Позитивне значення індексу фіксації Райта свідчить про те, що в усіх досліджених популяціях фактична гетерозиготність була меншою за теоретично очікувану. З огляду на те, що в цих групах тварин частота бажаного генотипу *AA* була вищою, ніж теоретично очікувана, можна припустити наявність впливу відбору проти гетерозигот на користь *AA*. Водночас гомозигот *BB* виявлено також більше, ніж теоретично можна було б очікувати. Отже, в досліджених популяціях спостерігається нерівновага на користь гомозигот як бажаного (*AA*) з погляду впливу на репродуктивні якості, так і небажаного (*BB*) генотипів проти гетерозигот (*AB*). Іншою інтерпретацією отриманих даних може бути можливе огомозигочування популяцій внаслідок інбридингу. Однак дослідження цих тварин за геном рецептора естрогену свідчить про протилежне.

На рисунку 3 представлено фактичні та теоретично очікувані частоти генотипів гена рецептора естрогену у свиней різних порід. В усіх досліджених за геном *ESR* популяціях спостерігали негативне значення індексу фіксації Райта (рис. 4) та підвищену частоту гетерозигот. Це може свідчити про відбір на користь гетерозигот за цим геном, адже відомо, що обидва алелі – *A* і *B* – є господарсько

корисними (алель *A* асоційований з відгодівельними якостями, алель *B* – з репродуктивними [9]).

Частоти генотипів гена ESR

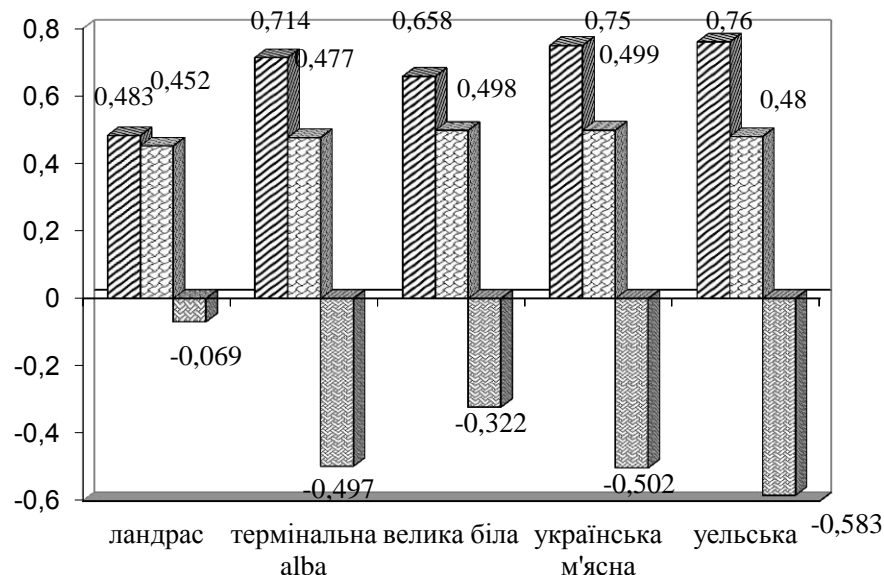


	Ландрас	Термінальна альба	Велика біла	Українська м'ясна	Уельська
χ^2	0,28	6,9**	7,57**	18,50***	41,85***

Примітка. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (різниця між фактичним і очікуваним розподілом генотипів відповідно до закону Харді-Вайнберга).

Рис. 3. Фактичні та теоретично очікувані частоти генотипів гена рецептора естрогену у свиней різних порід.

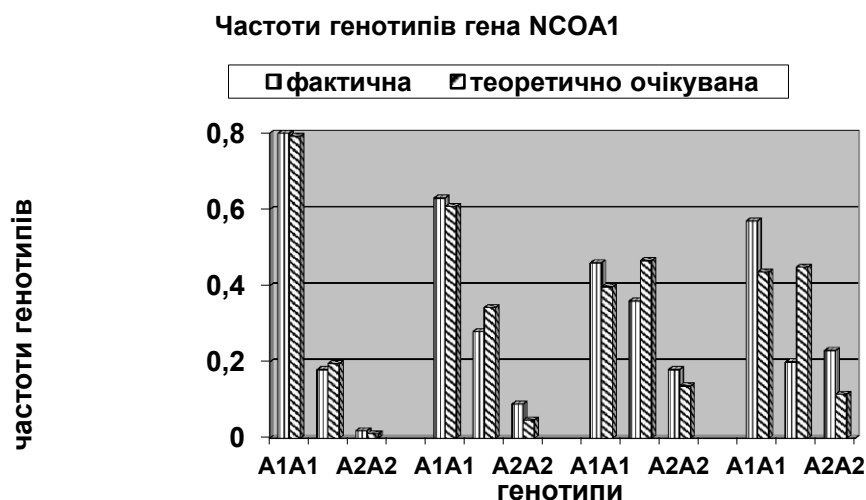
Максимальна частота алеля *B* серед досліджених популяцій була характерна для тварин термінальної лінії альба, створеної на основі породи велика біла. Найменшу частоту цього алеля спостерігали в уельської породи. Загалом всі досліджені популяції, в тому числі м'ясних порід, характеризувались високою частотою алеля *B*, що може свідчити про ведення селекційної роботи, спрямованої на підвищення репродуктивних якостей тварин. Так, частота алеля *B* у породи ландрас коливається від 0,06 (Польща) [2] до 0,27 [10].



■ Фактична гетерозиготність, H_0	▨ Очікувана гетерозиготність, H_E	■ F_{IS}
------------------------------------	-------------------------------------	------------

Рис. 4. Фактична, теоретично очікувана гетерозиготність та індекс фіксації Райта за геном рецептора естрогену у свиней різних порід.

Максимальна частота господарсько корисних ознак і генотипу *A1A1*, і алеля *A1* гена *NCOA1* серед досліджених популяцій була характерна для тварин породи ландрас (рис. 5).



	Ландрас	Велика біла	Українська м'ясна	Уельська
χ^2	0,29	2,22	3,54	35,99***

Примітка. *** $p < 0,001$ (різниця між фактичним і очікуваним розподілом генотипів відповідно до закону Харді-Вайнберга).

Рис. 5. Частоти генотипів гена ядерних рецепторів стероїдних гормонів *A1* (*NCOA1*) у свиней.

Отримані нами дані по породі ландрас відповідають результатам досліджень Костюніної О.В. [11] і Адаменко В.А. [12]. Досліджені тварини породи велика біла поступались за частотою бажаного генотипу зарубіжним аналогам. Найменшу частоту алеля *A1* виявлено в породі українська м'ясна, яка була досліджена за цим геном вперше. Аналіз частот генотипів гена ядерних рецепторів стероїдних гормонів *A1* свідчить про те, що в уельської породи спостерігаються статистично достовірні відмінності за розподілом частот генотипів від теоретично очікуваних згідно із законом Харді-Вайнберга.

На рисунку 6 представлено фактичну, теоретично очікувану гетерозиготність та індекс фіксації Райта за геном ядерних рецепторів стероїдних гормонів у свиней різних порід. Усі досліджені популяції характеризувались додатними значеннями індексу фіксації Райта. Це свідчить про те, що реальна гетерозиготність була меншою, ніж теоретично очікувана.

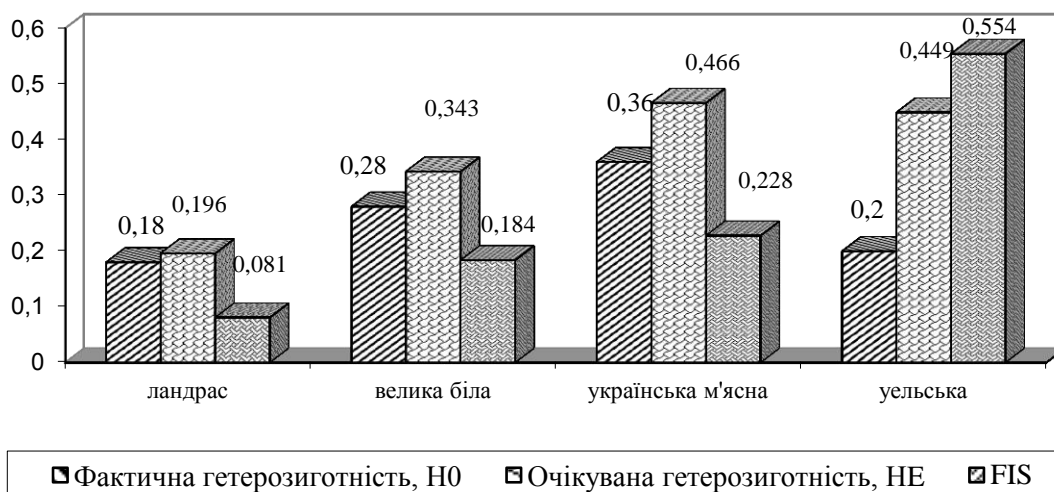


Рис. 6. Фактична, теоретично очікувана гетерозиготність та індекс фіксації Райта за геном ядерних рецепторів стероїдних гормонів у свиней різних популяцій.

За геном рецептора фолікулостимулювального гормону у досліджених тварин порід ландрас і велика біла поліморфізму виявлено не було (рис. 7). У свиней порід українська м'ясна і уельська

розподіл генотипів відповідав теоретично очікуваному згідно із законом Харді-Вайнберга. Фактична гетерозиготність була меншою за теоретично очікувану (рис. 8). Загалом досліджені популяції характеризувались наявністю високої частоти господарського корисного алеля *C*. Дослідження, проведені Jiang Z. [13], виявили у породи ландрас значно меншу частоту генотипу *CC* (0,39).

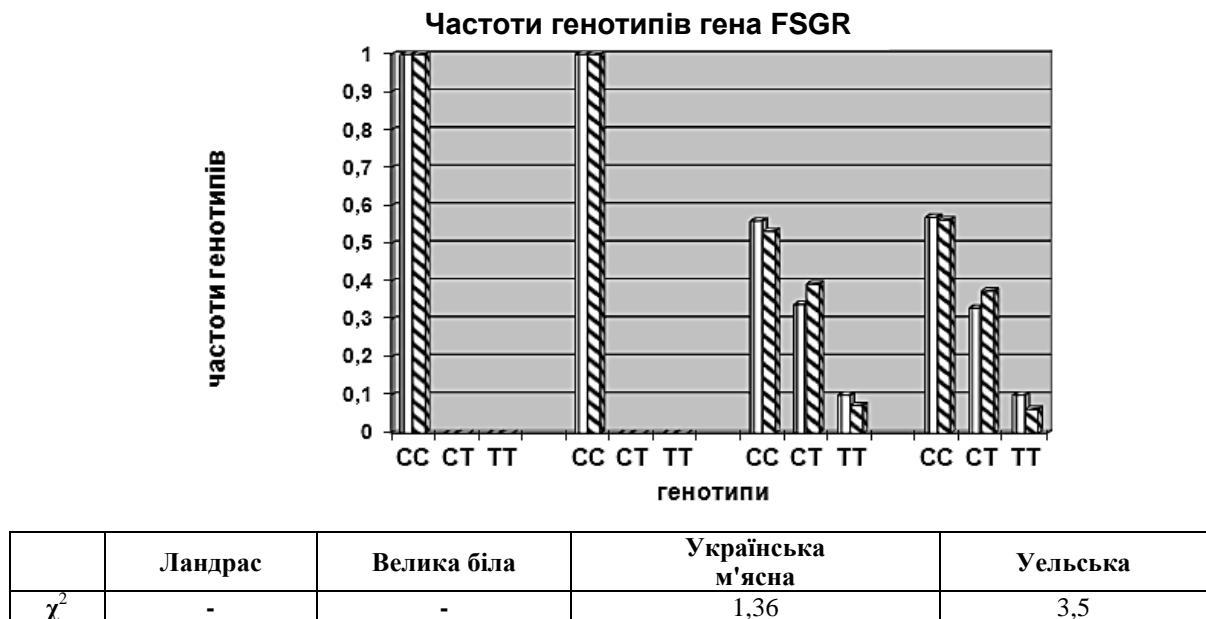


Рис. 7. Частоти фактичних і теоретично очікуваних генотипів гена рецептора фолікулостимулювального гормону у свиней.

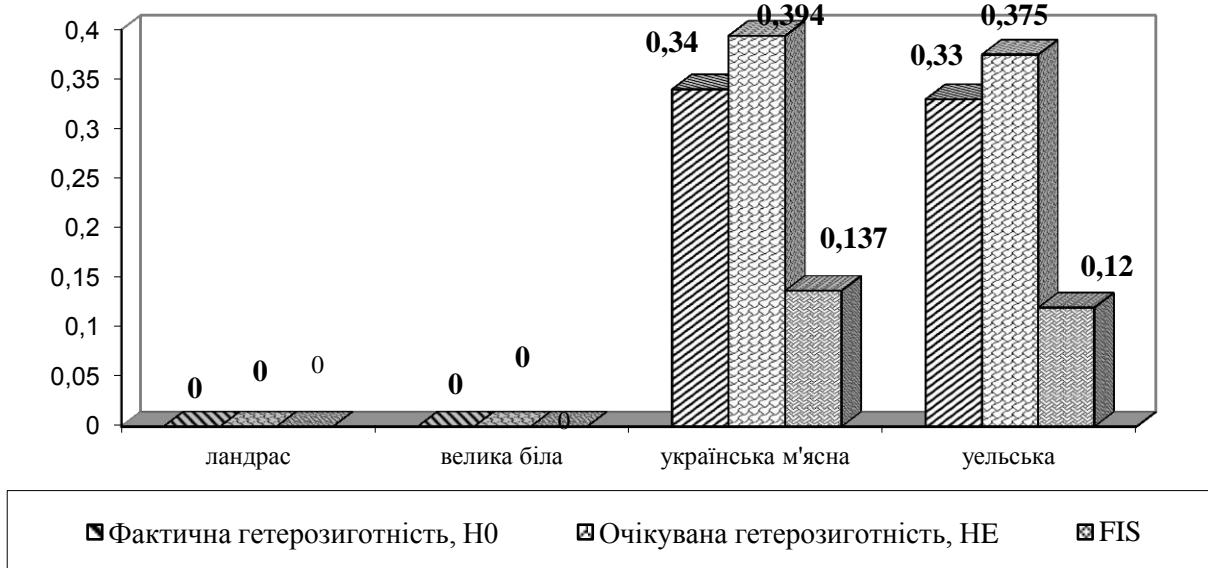


Рис. 8. Фактична, теоретично очікувана гетерозиготність та індекс фіксації Райта гена рецептора фолікулостимулювального гормону свиней різних порід.

Висновки. Таким чином, виявлено частоти генотипів і алелів у свиней порід українська м'ясна, уельська, ландрас і велика біла і термінальної лінії альба за генами рецепторів пролактину (*PRLR*) і фолікулостимулювального гормону (*FSHR*), естрогену (*ESR*), коактиватора *A1* ядерних рецепторів (*NCOA1*).

Максимальна частота алеля *B* гена *ESR* у досліджених популяціях характерна для тварин термінальної лінії альба, створеної на основі породи велика біла. Найменшу частоту цього алеля виявлено в уельській породи. Всі досліджені популяції свиней, у тому числі м'ясних порід, характеризувались високою частотою алеля *B*.

У породи ландрас і термінальної лінії альба відзначено найменшу частоту генотипу *AA* гена *PRLR*. У порід велика біла та українська м'ясна частота цього генотипу найвища. Частота алеля *A* найвища у свиней породи велика біла і найменша у породи ландрас.

Максимальна частота генотипу *A1A1* і алеля *A1* гена *NCOA1* серед досліджених популяцій була характерна для тварин породи ландрас. Найменшу частоту алеля *A1* спостерігали в породи українська м'ясна.

Поліморфізм гена рецептора фолікулостимулювального гормону у досліджених тварин порід ландрас і велика біла відсутній. У свиней порід українська м'ясна і уельська розподіл генотипів та алелів збігається.

Індекс фіксації Райта виявився позитивним для усіх досліджених генів, крім рецептора естрогену.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Всесвітня мережа Інтернет <http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTldb/SS/summary?summ=clas&qt1=8,315&pub=355&trait=621>
2. Kmiec M. Study on a relation between estrogen receptor (*ESR*) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed / M. Kmiec, J. Dvorak, I. Vrtkova // Czech J. Anim. Sci., 2002. — Vol. 47, № 5. — P. 189–193.
3. A meishan positive QTL for prolificacy traits found at the *NCOA1* locus on SSC3 / Melville J.S., GiBBins A.M.V., Robinson J.A.B. [et al.] // 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19–23. — 2002. — P. 15–30.
4. Drogemuller C. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines / C. Drogemuller, H. Hamann, O. Dist // J. Anim. Sci. — 2001. — № 79. — P. 2565–2570.
5. A missense mutation in the follicle stimulating hormone receptor (*FSHR*) gene shows different allele effects on litter size in Chinese Erhualian and German Landrace pigs / Z. Jiang, O. J. Rottmann, O. Krebs [et al.] // Anim. Breed. Genet. — 2002. — № 119. — P. 335–341.
6. Alonso V. Efeito do gene receptor de prolactina sobre características quantitativas de interesse economico em suínos / V. Alonso, B.A.A. Santana, W. Pirage Junior et al. // Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. — 2003. — № 40. — P. 366–372.
7. Serrano A.B. Prolactin Receptor (*PRLR*) Gene Polymorphism and Association with Reproductive Traits in Pigs / A.B. Serrano, J.G. Yerrera Haro, S. Hori-Oshima et al. // Journal of Animal and Veterinary Advances. — 2009. — Vol. 8, № 3. — P. 469–475.
8. Kmiec M. Associations between the prolactin receptor gene polymorphism and reproductive traits of boars / M. Kmiec, A. Terman // J. Appl. Genet. — 2006. — Vol. 47, № 2. — P. 139–141.
9. Сидоренко О.В. Поліморфізм генів рецепторів естрогену (*ESR*) і меланокортину-4 (*MC4R*) у свиней: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: 03.00.15 “Генетика” / О.В. Сидоренко. — Чубинське, 2011. — 20 с.
10. Lopez S.H.N. Efecto de genes candidatos sobre características reproductivas de hembras porcinas / S.H.N. Lopez, C.L. Flores, R. Alonso // Revista Científica, FCV-LUZ. — 2006. — Vol. XVI, № 6. — P. 648–654.
11. Костюнина О.В. Поліморфізм гена *NCOA1* у свиней різних порід / О.В. Костюнина, Н.А. Зиновьева // Міжнародна школа-конференція молодих учених «Біотехнологія майбутнього». В рамках Міжнародного Симпозіуму «ЄС-Росія: перспективи співробітництва в області біотехнології в 7-й Рамочній Програмі». — М.: Авіаіздат, 2006. — С. 41–43.
12. Адаменко В.А. Роль комплексу поліморфних маркерів в характеристиці генетичного потенціалу свиней: автореф. дис. ... канд. біол. наук: спец. 03.02.21 — біотехнологія / Адаменко Володимир Аркадійович. — М., 2005. — 24 с.
13. Jiang Z. A missense mutation in the follicle stimulating hormone receptor (*FSHR*) gene shows different allele effects on litter size in Chinese Erhualian and German Landrace pigs / Z. Jiang, O.J. Rottmann, O. Krebs et al. // Anim. Breed. Genet. — 2002. — № 119. — P. 335–341.

Особенности полиморфизма генов *ESR*, *NCOA1*, *PRLR*, *FSHR* у свиней различных пород

С.А. Костенко, М.В. Драгулян, Е.В. Сидоренко

Виявлені частоти генотипів і алелів у свиней порід українська м'ясна, уельська, ландрас і крупна біла і термінальної лінії альба по генам рецепторів пролактину (*PRLR*) і фолікулостимулюючого гормону (*FSHR*), естрогена (*ESR*), коактиватора *A1* ядерних рецепторів (*NCOA1*). Все досліджані популяції свиней, в том числі м'ясних порід, характеризувались високою частотою алеля *B* гена *ESR*. Максимальна частота алеля *B* (0,6) в досліджених популяціях характерна для живих термінальної лінії альба, створеної на основі породи крупна біла, найменша частота цього алеля виявлена в уельській породи (0,4). Частота алеля *A* гена *PRLR* висока у свиней породи крупна біла (0,49) і найменша у породи ландрас (0,33). У породи ландрас і термінальної лінії альба відзначена найменша частота генотипу *AA* (0,22). Найвища частота генотипу *AA* виявлена в порід крупна біла (0,33) і українська м'ясна (0,35). Максимальна частота генотипу *A1A1* (0,8) і алеля *A1* (0,89) гена *NCOA1* серед досліджених популяцій була характерна для живих породи ландрас. Найменша частота алеля *A1* була у породи українська м'ясна (0,63). Не був виявлений поліморфізм гена рецептора фолікулостимулюючого гормону в досліджених живих порід ландрас і крупна біла. У свиней порід українська м'ясна і уельська розподіл генотипів і алелів майже збігається (С-0, 73, Т-0, 27). Індекс фіксації Райта виявився позитивним для всіх досліджених генів, крім рецептора естрогена.

Ключевые слова: *Sus scrofa*, свинья домашняя, ландрас, крупная белая порода, уельская порода, украинская м'ясна порода, ген рецептора естрогена, ген рецептора пролактину, ген ядерного коактиватора рецепторів *A1*, поліморфізм, *ESR*, *NCOA1*, *PRLR*, *FSHR*.

Characteristics polymorphism of ESR, NCOA1, PRLR, FSHR genes in pigs of different breeds

S. Kostenko, M. Dragulyan, O. Sidorenko

Pigs Ukrainian meat, Welsh, Landrace and Large White breeds and terminal line Alba werw identified by genes prolactin receptor (*PRLR*) and follicle stimulating hormone (*FSHR*), estrogen (*ESR*), nuclear receptor coactivator *A1* (*NCOA1*). All studied populations of pigs, including meat species, characterized by a high frequency of alleles in the gene *ESR*. The maximum frequency of allele *B* (0.6) was in the studied populations typical of animals Alba terminal lines established on the basis of Large White breed, the lowest frequency of this allele was found in the Welsh breed (0.4). The frequency of allele *A* *PRLR* gene is highest in pigs of Large White breed (0.49) and the lowest in Landrace (0.33). In Landrace and line terminal Alba marked the lowest frequency of genotype *AA* (0.22). The highest frequency of *AA* genotype was found in a Large White breed (0.33) and Ukrainian meat (0.35). The maximum frequency of genotype *A1A1* (0.8) and the *A1* allele (0.89) *NCOA1* gene among the studied populations was observed in animals Landrace. The lowest frequency of allele *A1* was in the Ukrainian meat breed (0.63).

No polymorphism was detected follicle-stimulating hormone receptor gene in the studied animal breeds Landrace and Large White. In pig breeds Ukrainian meat and Wales distribution of genotypes and alleles are nearly equal (C-0, 73, T-0, 27). Wright's fixation index was positive for all studied genes in addition to the estrogen receptor.

Key words: *Sus scrofa*, pig, Landrace, Large White breed, breed Welsh, Ukrainian meat breed, the estrogen receptor gene, prolactin receptor gene, the gene nuclear coactivator *A1* polymorphism, *ESR*, *NCOA1*, *PRLR*, *FSHR*.