

---

## ANIMAL HUSBANDRY

---

DOI: <https://doi.org/10.23649/jae.2022.28.8.013>

Romanets T.S.<sup>1\*</sup>, Bakoev F.S.<sup>2</sup>, Dupliy N.G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Don State Agrarian University, Persianovsky village, Russia;

<sup>2</sup> Institute of International Economic Relations, Moscow, Russia;

<sup>3</sup> D.I. Academy of Biology and Biotechnology named after D.I. Ivanovsky, South Federal University, Rostov-on-Don, Russia

\* Corresponding author (timofey\_8877[at]mail.ru)

Received: 03.12.2022; Accepted: 15.12.2022; Published: 19.12.2022

### POLYMORPHISM OF THE ROBO2 GENE AND ITS RELATION TO THE CONDITION OF LIMBS AND FATTENING QUALITIES OF DUROC PIGS

Research article

#### Abstract

Limb defects in pigs have a significant genetic basis, and the identification of genes that cause predisposition to diseases can help improve the efficiency of breeding work. In this work, the prospects of using the ROBO2 gene as a candidate gene associated with the presence of bumps on the hind limbs of pigs (ZNSH) were studied. The connection of the genotypes of the ROBO2 gene with the level of average daily growth and fodder conversion in Duroc pigs was established, the most successful variants are animals with heterozygous GA genotype. The lowest level of average daily growth was found in pigs with the GG genotype, which was also associated with the presence of terminal bumps on the hind limbs. Reliable varieties found with ROBO2 gene genotypes have not been established according to the opportunistic feed version.

**Keywords:** ROBO2, candidate gene, average daily growth, fodder conversion, Duroc.

Романец Т.С.<sup>1\*</sup>, Бакоев Ф.С.<sup>2</sup>, Дуплий Н.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Донской государственный аграрный университет, пос. Персиановский, Россия;

<sup>2</sup> Институт международных экономических связей, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ, Ростов-на-Дону, Россия

\* Корреспондирующий автор (timofey\_8877[at]mail.ru)

Получена: 03.12.2022; Доработана: 15.12.2022; Опубликована: 19.12.2022

### ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ROBO2 И ЕГО СВЯЗЬ С СОСТОЯНИЕМ КОНЕЧНОСТЕЙ И ОТКОРМОЧНЫМИ КАЧЕСТВАМИ СВИНЕЙ ПОРОДЫ ДЮРОК

Научная статья

#### Аннотация

Дефекты конечностей у свиней имеют значительную генетическую основу и выявление генов, обуславливающих предрасположенность к заболеваниям, может помочь повысить эффективность селекционно-племенной работы. В данной работе была установлена перспективность использования гена ROBO2, в качестве гена-кандидата, связанного с наличием шишек на задних конечностях свиней (ЗНШ). Выявлена связь генотипов гена ROBO2 с уровнем среднесуточного прироста, наилучшие значения имели животные с гетерозиготным генотипом GA. Самый низкий уровень среднесуточного прироста установлен у свиней с генотипом GG, который также был ассоциирован с наличием шишек на задних конечностях. Достоверных различий, связанных с генотипами гена ROBO2 по конверсии корма не установлено.

**Ключевые слова:** ROBO2, ген-кандидат, среднесуточный прирост, конверсия корма, дюрок.

#### 1. Введение

В свиноводстве дефекты конечностей оказывают значительное негативное влияние на эффективность производства, такие свиноматки и хряки не могут быть использованы в качестве племенного материала, что приводит к значительным экономическим потерям. Одним из таких дефектов являются шишки в области скакательных суставов на задних конечностях, в свиноводческих хозяйствах этот недостаток обозначают как ЗНШ. Обычно данный дефект не приводит к хромоте, однако оказывает значительное влияние на экстерьер племенных свиней. В качестве предрасполагающих факторов этиологии ЗНШ можно рассматривать технологию производства и генетику. Ранняя

диагностика предрасположенности животного к заболеваниям и уровню продуктивности может быть обеспечена применением ДНК маркеров [1], [2], [3], в связи с чем поиск и изучение генов-кандидатов, связанных с ЗНШ у свиней, является актуальным направлением исследований.

С появлением высокопроизводительных инструментов генотипирования полиморфизма одиночных нуклеотидов (SNP) у различных видов скота общегеномные ассоциативные исследования служат общепринятыми подходами к идентификации маркеров, связанных с различными фенотипическими признаками, от моногенных до более сложных количественных признаков. Благодаря этому подходу, было идентифицировано большое количество генов и конкретных SNP связанных с предрасположенностью к различным заболеваниям, воспроизводительными, мясными, откормочными и другими качествами продуктивности свиней [4], [5], [6]. Проведённые ранее исследования показали перспективность использования гена ROBO2 в качестве гена-маркера наличия/отсутствия предрасположенности к образованию шишек у свиней [7]. Ген ROBO2 (SSC13) относится к суперсемейству иммуноглобулинов и представляют собой кольцевой рецептор наведения аксона. У млекопитающих были идентифицированы четыре гомолога ROBO: ROBO1 (Dutt1), ROBO2, ROBO3 (Rig1) и ROBO4. Полногеномные ассоциативные исследования гематологических и клинико-биохимических признаков крови у крупных белых свиней выявили ряд генов, одним из которых был ROBO2, он показал связь с гемоглобином [8]. Некоторые исследований показали, что варианты гена ROBO2 связаны с признаками иммунитета у кур [9]. Семейство ROBO имеет широкий спектр, предполагающий разнообразные функции в развитии нервной системы [10], [11], кроме того, сигналы SLIT/ROBO воздействуют на дыхательную, репродуктивную, иммунную и кровеносную системы [9]. В данной работе мы стремились выявить связь нуклеотидных замен в гене ROBO2 с наличием шишек на конечностях, а также с откормочными качествами свиней породы дюрок.

## 2. Объект и методы исследования

Исследования проводили на чистопородных хряках породы дюрок,  $n=51$ . Для анализа связи генотипов гена ROBO2 с состоянием конечностей представили признак как бинарный с градациями 0 – животные без шишек и 1 – с шишками на задних конечностях. Для оценки вероятности появления шишек использовали выражение логистической регрессии. Коэффициент  $\beta$  рассчитывали с помощью обобщённой линейной модели GLM (Generalized Linear Models) в программе R, чем выше коэффициент  $\beta$ , тем выше вероятность появления шишек.

В качестве откормочных признаков учитывали среднесуточный прирост и конверсию корма. Оценку влияния генотипов гена ROBO2 на эти признаки определяли на основе критерия Стьюдента ( $t$ -test) в программе R.

## 3. Результаты и обсуждение

В результате проведения ДНК-генотипирования хряков породы дюрок были установлены генотипы AA, AG и GG гена ROBO2. При оценке распределения частот явным приоритетом располагал аллель A (0,72). Частота встречаемости генотипов была следующей: ROBO2\_AA – 52,9%, ROBO2\_GA – 37,3%, самую низкую вероятность появления имел генотип ROBO2\_GG – 9,8%.

Ассоциации между SNP и наличием у хряков ЗНШ были протестированы с помощью коэффициент  $\beta$  обобщённой линейной модели GLM (табл. 1).

Таблица 1 – Расчётные значения коэффициент  $\beta$  для генотипов гена ROBO2

Генотип	коэф. $\beta$	ст. ошибка	z-критерий	Pr(> z )
ROBO2_AA	-2,0794	0,6124	-3,3960	0,0007
ROBO2_GA	1,9741	0,7656	2,5790	0,0099
ROBO2_GG	3,4657	1,2747	2,7190	0,0065

Отрицательное значение коэффициента  $\beta$ , полученное в группе с генотипом AA, свидетельствует о обратной зависимости между проявлением шишек на задних конечностях свиней и наличием у хряков генотипа ROBO2\_AA. Наивысший коэффициент  $\beta$  (3,4657) получен в группе с генотипом GG, что указывает на связь данного генотипа с проявлением ЗНШ в изучаемой популяции дюрков. Значения, оцененные по z-критерию, находились в пределах от – 3,40 до 2,72 что говорит о статистической значимости расчётов. Таким образом выявлена ассоциация полиморфизма гена ROBO2 с образованием шишек на конечностях свиней.

В селекционно-племенной работе важное значение имеет выявление животных, способных сочетать высокие показатели продуктивности с минимальным потреблением кормов. Мы изучили уровень среднесуточного прироста и коэффициент конверсии корма у хряков в зависимости от генотипа по гену ROBO2, полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Откормочные качества хряков различных генотипов

Генотип	n	Среднее	Ошибка среднего	Минимум	Максимум
Среднесуточный прирост, кг					
ROBO2_AA	27	0,9420	0,01686	0,8125	1,2
ROBO2_GA	19	1,0040	0,0209	0,8680	1,2305
ROBO2_GG	5	0,8979	0,0433	0,7605	1,03
Конверсия корма					
ROBO2_AA	27	2,4514	0,0285	2,23	2,76
ROBO2_GA	19	2,3642	0,0396	2,106	2,93
ROBO2_GG	5	2,43	0,0527	2,32	2,6

Анализ связи генотипов с уровнем среднесуточного прироста показал, что наилучшие значения имели животные с гетерозиготным генотипом GA по гену ROBO2, по данному показателю они достоверно превосходили группы с генотипом AA на 6,7% ( $P=0,026$ ), а также можно отметить тенденцию к превосходству группы с генотипом GG. Самый низкий среднесуточный прирост установлен в группе с генотипом GG, который был ассоциирован с наличием шишек на задних конечностях свиней. Достоверность различий в уровне среднесуточного прироста и конверсии корма представлены на рисунках 1 и 2.

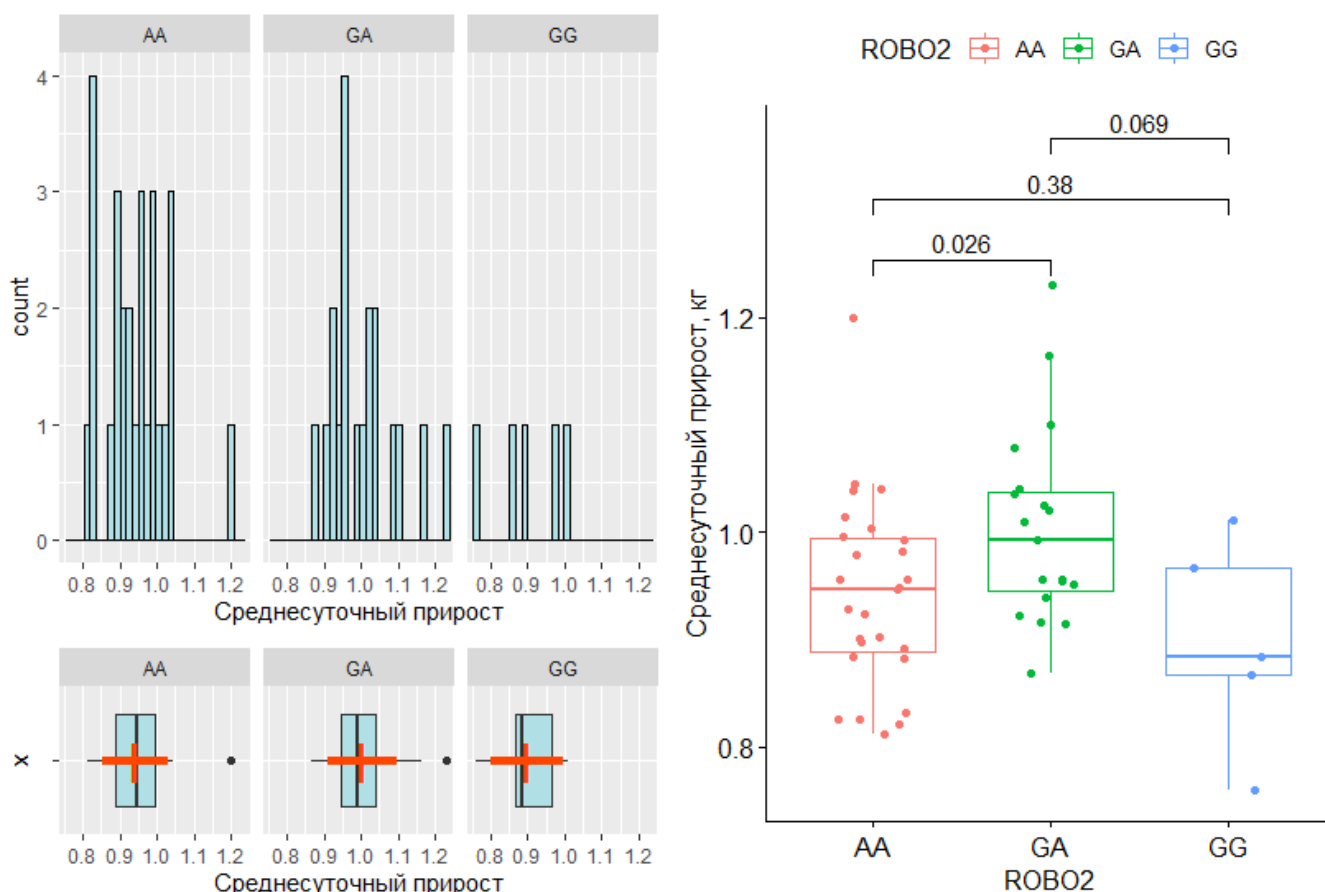


Рис. 1 – Среднесуточный прирост свиней породы дюрок различных генотипов гена ROBO2

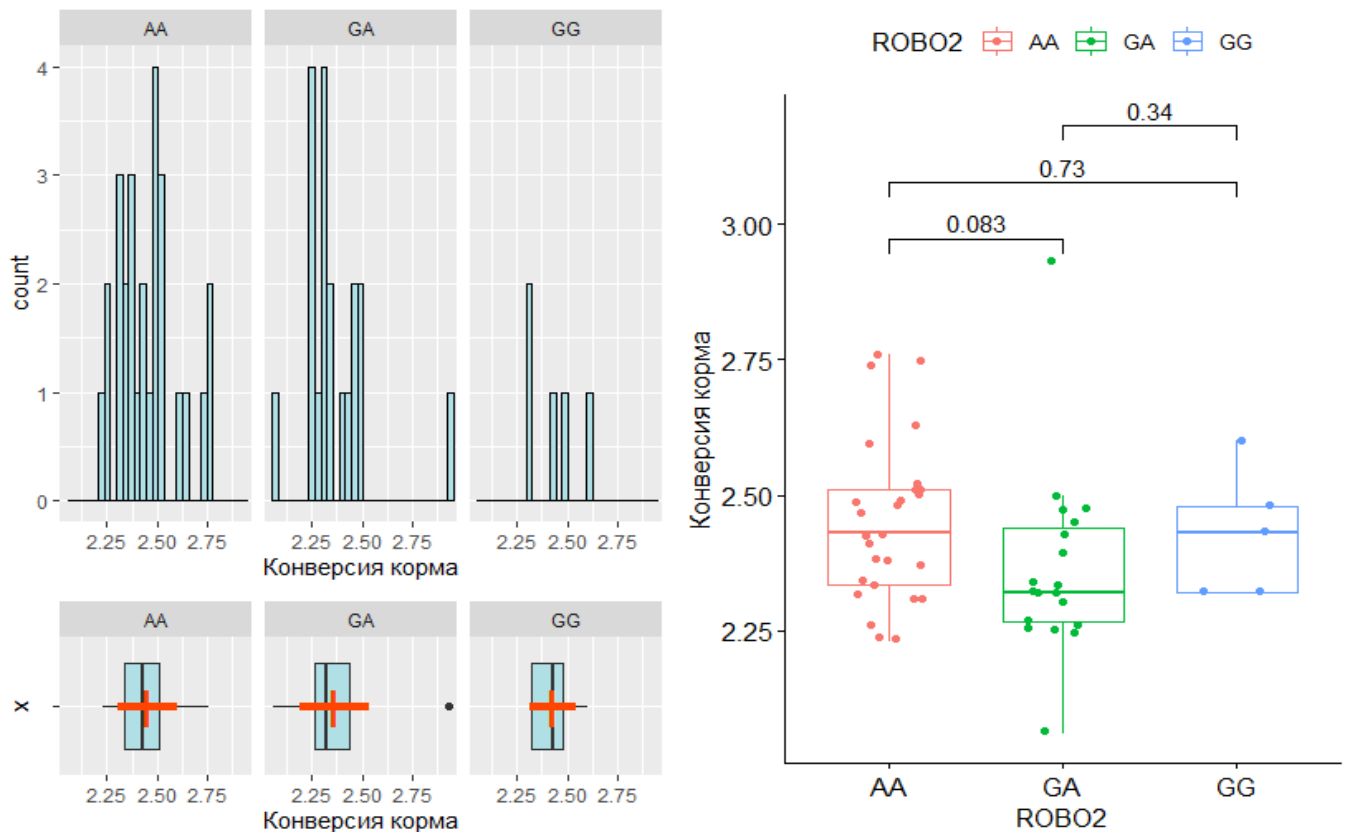


Рис. 2 – Конверсия корма свиней породы дюрок различных генотипов гена ROBO2

Одним из способов снижения затрат на корма является увеличение коэффициента использования корма. В нашем исследовании достоверных различий, связанных с генотипами гена ROBO2 по конверсии корма не установлено. Однако, можно отметить, что лучшей конверсией корма обладали животные с генотипом ROBO2\_GA, коэффициент конверсии корма в этой группе составил 2.3642. Анализируя взаимосвязь среднесуточного прироста и коэффициента конверсии корма у животных с различным генотипом, можно выделить группу гетерозигот ROBO2\_GA, они отличались наибольшим среднесуточным приростом, при наименьших затратах корма. Хряки с генотипом GG, при практически равном коэффициенте конверсии корма, уступали группе хряков с генотипом AA, у которых соотношение конверсия корма и среднесуточных прирост было лучше.

#### 4. Заключение

Таким образом, в ходе проведенных исследований установлено, что ген ROBO2 может рассматриваться в качестве гена-кандидата связанного с наличием ЗНШ у свиней породы дюрок, при этом генотипы AA и AG являются желательными. Можно предположить, что закрепление нежелательного генотипа GG связано с положительными эффектами гетерозиготного генотипа AG на среднесуточный прирост и конверсию корма.

#### Conflict of Interest

None declared.

#### Конфликт интересов

Не указан.

#### References

1. Le T. H. Genome-wide association study for conformation traits in three Danish pig breeds / T.H. Le, O.F. Christensen, B. Nielsen et al. // *Genetics, selection, evolution: GSE*. – 2017. – Vol. 49. – № 1. – С. 12-12.
2. Getmantseva L. V. Assessing the Effect of SNPs on Litter Traits in Pigs / L.V. Getmantseva, S.Y. Bakoev, V.S Shevtsova et al.// *Scientifica (Cairo)*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 5243689.
3. Колосова М. ДНК-Маркеры продуктивности в свиноводстве / М. Колосова, А. Колосов, Ф. Бакоев // *Вестник Донского государственного аграрного университета*. – 2019. – № 4–1. – P. 16-20.
4. Sukhno V. Association of Fut1 and Slc11a1 gene polymorphisms with productivity traits of Large White pigs / V. Sukhno, P. Vashchenko, A. Saenko et al. // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2022. – Vol. 13. – № 3. – P. 225-230.
5. Óvilo C. SNP discovery and association study for growth, fatness and meat quality traits in Iberian crossbred pigs / C. Óvilo, N. Trakooljul, Y. Núñez et al. // *Scientific reports*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 1-16.
6. Cao R. Genomic Signatures Reveal Breeding Effects of Lulai Pigs / R. Cao, J. Feng, Y. Xu et al. // *Genes*. – 2022. – Vol. 13. – № 11. – P. 1969.
7. Getmantseva L. Genomic Regions and Candidate Genes Linked to Capped Hock in Pig / L. Getmantseva, M. Kolosova, F. Bakoev et al. // *Life*. – 2021. – Vol. 11. – № 6. – P. 510.

8. Bovo S. Genome-wide association studies for 30 haematological and blood clinical-biochemical traits in Large White pigs reveal genomic regions affecting intermediate phenotypes / S. Bovo, G. Mazzoni, F. Bertolini et al. // *Scientific reports*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 1-17.
9. Wang Y. An association between genetic variation in the roundabout, axon guidance receptor, homolog 2 gene and immunity traits in chickens / Y. Wang, J. Wang, B. Li et al. // *Poultry Science*. – 2014. – Vol. 93. – № 1. – P. 31-38.
10. Yue Y. Isolation and differential expression of two isoforms of the ROBO2/Robo2 axon guidance receptor gene in humans and mice / Y. Yue, B. Grossmann, D. Galetzka et al. // *Genomics*. – 2006. – Vol. 88. – № 6. – P. 772-778.
11. Hivert B. Sundaresan V. Robo1 and Robo2 are homophilic binding molecules that promote axonal growth / B. Hivert, Z. Liu, C.-Y. Chuang et al. // *Molecular and Cellular Neuroscience*. – 2002. – Vol. 21. – № 4. – P. 534-545.

#### **References in English**

1. Le T. H. Genome-wide association study for conformation traits in three Danish pig breeds / T.H. Le, O.F. Christensen, B. Nielsen et al. // *Genetics, selection, evolution: GSE*. – 2017. – Vol. 49. – № 1. – P. 12-12.
2. Getmantseva L. V. Assessing the Effect of SNPs on Litter Traits in Pigs / L.V. Getmantseva, S.Y. Bakoev, V.S. Shevtsova et al. // *Scientifica (Cairo)*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 5243689.
3. Kolosova M. DNK-Markery produktivnosti v svinovodstve [DNA markers of productivity in pig production] / M. Kolosova, A. Kolosov, F. Bakoev // *Vestnik Donskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Bulletin of the Don State Agrarian University]*. – 2019. – № 4–1. – P. 16-20 [in Russian]
4. Sukhno V. Association of Fut1 and Slc11a1 gene polymorphisms with productivity traits of Large White pigs / V. Sukhno, P. Vashchenko, A. Saenko et al. // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2022. – Vol. 13. – № 3. – P. 225-230.
5. Óvilo C. SNP discovery and association study for growth, fatness and meat quality traits in Iberian crossbred pigs / C. Óvilo, N. Trakooljul, Y. Núñez et al. // *Scientific reports*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 1-16.
6. Cao R. Genomic Signatures Reveal Breeding Effects of Lulai Pigs / R. Cao, J. Feng, Y. Xu et al. // *Genes*. – 2022. – Vol. 13. – № 11. – P. 1969.
7. Getmantseva L. Genomic Regions and Candidate Genes Linked to Capped Hock in Pig / L. Getmantseva, M. Kolosova, F. Bakoev et al. // *Life*. – 2021. – Vol. 11. – № 6. – P. 510.
8. Bovo S. Genome-wide association studies for 30 haematological and blood clinical-biochemical traits in Large White pigs reveal genomic regions affecting intermediate phenotypes / S. Bovo, G. Mazzoni, F. Bertolini et al. // *Scientific reports*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 1-17.
9. Wang Y. An association between genetic variation in the roundabout, axon guidance receptor, homolog 2 gene and immunity traits in chickens / Y. Wang, J. Wang, B. Li et al. // *Poultry Science*. – 2014. – Vol. 93. – № 1. – P. 31-38.
10. Yue Y. Isolation and differential expression of two isoforms of the ROBO2/Robo2 axon guidance receptor gene in humans and mice / Y. Yue, B. Grossmann, D. Galetzka et al. // *Genomics*. – 2006. – Vol. 88. – № 6. – P. 772-778.
11. Hivert B. Sundaresan V. Robo1 and Robo2 are homophilic binding molecules that promote axonal growth / B. Hivert, Z. Liu, C.-Y. Chuang et al. // *Molecular and Cellular Neuroscience*. – 2002. – Vol. 21. – № 4. – P. 534-545.