

УДК 575:636.4.082.4

Драгулян Марія Валеріївна, кандидат біологічних наук, науковий співробітник

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Костенко Світлана Олексіївна, кандидат біологічних наук, доцент

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Сидоренко Олена Василівна, кандидат с.-г. наук, завідувач сектору

Джус Павліна Петрівна, кандидат біологічних наук, завідувач лабораторії

Інститут розведення і генетики тварин ім. М.В.Зубця НААН України

svitlanakasijan@ukr.net

ОЦІНКА СПЕРМОПРОДУКТИВНОСТІ КНУРІВ ВЕЛИКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ ГЕНІВ *ESR1* ТА *NCOA1*

*Проведено молекулярний аналіз кнурів великої білої породи за генами рецептору естрогену 1 та коактиватору A1 ядерних рецепторів. У групі досліджених тварин встановлено високу частоту бажаних алелів В локусу *ESR1* та A1 локусу *NCOA1*. Серед досліджених за геном естроген-рецептору 1 кнурів більшість тварин були гетерозиготними носіями бажаного алеля В, частота якого становила 0,48. За геном *NCOA1* частота бажаного алеля A1 становила 0,81, а гомозигот *NCOA1^{A1A1}* – 74 %.*

*За об'ємом еякуляту, концентрацією та кількістю спермій в еякуляті кращі показники мали кнури – носії генотипів *ESR^{BB}* та *ESR^{AB}* порівняно з аналогами генотипу *ESR^{AA}*. Тварини з генотипом *ESR^{BB} NCOA1^{A1A1}* переважали за всіма дослідженими показниками спермопродуктивності кнурів інших генотипів за досліджуваними локусами.*

Ключові слова: кнури, велика біла порода, спермопродуктивність, гени *ESR1* та *NCOA1*

У свині свійської відомо понад 11610 QTL, що стосуються 649 різних ознак. З варіативністю репродуктивних функцій пов'язані 1035 локуси [1], серед яких особливої уваги заслуговують гени рецепторів стероїдних гормонів.

В організмі дія естрогенів реалізується через їх рецептори, що є факторами транскрипції [2]. Ген коактиватор A1 ядерних рецепторів (*NCOA1*) взаємодіючи із рецептором естрогену стимулює його до транскрипції, у чому

і проявляється полігенний вплив генів на прояв кількісних ознак. За дослідженнями Н.А. Зінов'євої з співавторами у популяціях сучасних порід свиней ландрас, йоркшир і дюррок частка тварин із бажаним генотипом за геном *NCOA1* коливається від 49,6 до 96,4 % [3], що можна використовувати для цілеспрямованого насичення стад тваринами-носіями бажаного генотипу і враховувати у системах міжпородного схрещування для поліпшення фенотипового прояву асоційованих із цим локусом ознак у помісних тварин.

Поряд із систематичним індивідуальним молекулярним аналізом плідників різних порід свиней актуальним та невирішеним питанням залишається взаємозв'язок поліморфізму досліджуваних генів із відтворними якостями кнурів, зокрема, їх спермопродуктивністю.

Мета досліджень. Тому метою цієї роботи було визначити поліморфізм генів *ESR1* і *NCOA1* у кнурів великої білої породи та проаналізувати їх спермопродуктивність залежно від генотипу.

Матеріали і методи досліджень. Дослідили 29 кнурів великої білої породи, сперму яких використовували в період 2007-2011 років у СВАТ «Агрокомбінат «Калита» Броварського району Київської області.

Геномну ДНК виділяли з волосяних фолікулів за допомогою комплекту реактивів «ДНК-сорб В» (АмпліСенс, Росія). У пробірку 1,5 мл вносили 15-25 волосяних фолікулів, лізис проводили впродовж 2 годин. Подальше виділення ДНК здійснювали відповідно до рекомендацій виробника. Генотипування свиней проводили методом ПЛР-ПДРФ (полімеразна ланцюгова реакція, поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів) за методиками [4, 5].

Показники спермопродукції кнурів оцінювали за даними форм племінного обліку. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою програмного забезпечення *Excel 2007*.

Результати досліджень та їх обговорення. Частоти генотипів,

виявлені у кнурів, за генами *ESR1* та *NCOA1* наведено в таблиці 1.

За результатами наших досліджень у кнурів великої білої породи за геном рецептору естрогену 1 (*ESR1*) частота бажаного генотипу *BB* становила 0,103, гетерозиготних носіїв (*AB*) – 0,759, алеля *B* – 0,483. За геном *NCOA1* частота носіїв гетерозиготного генотипу (*A1A2*) склала – 0,21, гомозиготних (*A1A1* і *A2A2*) – 0,71 і 0,08 відповідно. Частота бажаного алеля *A1* становила 0,81.

Таблиця 1

**Частоти генотипів та алелів у кнурів великої білої породи за генами
ESR1 та *NCOA1***

К-ть, голів	Генотип			Алель		χ ²	
Ген рецептора естрогену (<i>ESR1</i>)							
29	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	7,84**	
	Ф	0,14±0,064	0,76±0,079	0,10±0,056	0,52±		0,48±
	О	0,27±0,082	0,50±0,093	0,23±0,079	0,032		0,033
Ген коактиватор А1 ядерних рецепторів (<i>NCOA1</i>)							
24	<i>A1A1</i>	<i>A1A2</i>	<i>A2A2</i>	<i>A1</i>	<i>A2</i>	2,13	
	Ф	0,71±0,093	0,21±0,083	0,08±0,055	0,81±		0,19±
	О	0,65±0,097	0,31±0,094	0,04±0,040	0,027		0,036

Примітки: Бажаний алель виділено жирним шрифтом;

** $p < 0,01$ (різниця між фактичним (Ф) та очікуваним (О) розподілом генотипів відповідно до закону Харді-Вайнберга).

Виявлено різницю між фактичним і очікуваним розподілом генотипів відповідно закону Харді-Вайнберга за дослідженими генами. У кнурів за геном *ESR1* встановлено вірогідно $p < 0,01$ вищу частоту гетерозиготного генотипу (*AB*). За геном *NCOA1* у тварин встановлена вища частота гомозиготного генотипу *A1A1* з вірогідністю $p < 0,001$, який за нашими даними та інших дослідників є бажаним [6].

Якість спермопродукції кнурів залежно від генотипів за генами *ESR* та *NCOA1* представлено в таблиці 2.

Кнури великої білої породи з генотипом *BB* за геном *ESR* мали кращі показники об'єму еякуляту та концентрації сперміїв, ніж тварини з

генотипами *AA* і *AB*. Кількість сперміїв в еякулятах у носіїв генотипу *BB* була вірогідно вищою ($p < 0,05$), ніж у тварин з генотипом *AB*, на 12,75 млрд. Активність сперміїв у гомозиготних тварин була більшою порівняно з гетерозиготними.

За геном *NCOA1* носії генотипу *A1A1* переважали аналогів з іншими генотипами за концентрацією сперми та її кількістю сперміїв в еякуляті. Носії гетерозиготного генотипу (*A1A2*) мали гірші показники спермопродуктивності, проте отримані результати виявились статистично невірогідними.

Таблиця 2.

Якість спермопродукції кнурів залежно від генотипу за генами *ESR1* та *NCOA1*

Генотип	Кількість тварин, голів	К-ть еякулятів	Об'єм еякуляту, мл	Концентрація сперміїв в еякуляті, млрд/мл	Активність сперміїв, бал	Кількість сперміїв в еякуляті, млрд
Ген рецептора естрогену (<i>ESR1</i>)						
<i>AA</i>	4	355	248,76±33,306	0,314±0,023**	7,98±0,010	76,73±8,492*
<i>AB</i>	21	1035	235,62±12,666**	0,394±0,017**	7,97±0,015	93,46±6,397*
<i>BB</i>	3	90	291,50±50,955**	0,384±0,067	8,00±0,005	108,30±0,125**
Ген коактиватор A1 ядерних рецепторів (<i>NCOA1</i>)						
<i>A1A1</i>	17	884	248,58±14,676	0,379±0,015	7,97±0,012	93,31±5,548
<i>A1A2</i>	4	166	225,45±36,260	0,280±0,054	7,98±0,059	62,42±25,254
<i>A2A2</i>	2	236	251,715±11,715	0,341±0,013	8,00±0,00	85,83±7,16

Примітка: ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

Важливим є також виявлення впливу комплексного генотипу за двома генами на спермопродуктивність кнурів. Дані такого аналізу представлені в таблиці 3.

Таблиця 3

Якість спермопродукції кнурів залежно від комплексного генотипу за
генами *ESR1* та *NCOA1*

Генотип		n	К-ть еяку- лятів	Об'єм еякуляту, мл	Концентрація спермій в еякуляті, млрд/мл	Активність спермій, бал	Кількість спермій в еякуляті, млрд
<i>ESR</i>	<i>NCOA1</i>						
<i>AA</i>	<i>A1A1</i>	1	54	265,74	0,355	7,97	94,34
<i>AA</i>	<i>A1A2</i>	1	40	325,00	0,247	7,96	80,37
<i>AA</i>	<i>A2A2</i>	1	169	240,0	0,328	8,00	78,67
<i>AB</i>	<i>A1A1</i>	14	720	219,97±16,942***	0,377±0,016	7,95±0,014	83,33±6,347
<i>AB</i>	<i>A1A2</i>	3	120	266,43±42,912***	0,346±0,067	7,90±0,081	97,35±35,207
<i>AB</i>	<i>A2A2</i>	1	67	263,43	0,353	8,00	92,99
<i>BB</i>	<i>A1A1</i>	2	45	291,50	0,384	8,00	108,30

Примітка: *** $p < 0,001$.

Статистичний аналіз отриманих даних свідчить, що плідники з комплексним генотипом $ESR^{BB} NCOA1^{A1A1}$ переважали за всіма дослідженими показниками спермопродуктивності тварин з іншими генотипами. Однак, найчастіше у кнурів зустрічався генотип $ESR^{AB} NCOA1^{A1A1}$. Це може бути обумовленим як стохастичними причинами, в результаті яких була створена вибірка, так і закономірностями відбору племінних тварин на основі їх репродуктивних якостей.

Висновки та перспективи досліджень:

Серед досліджених за геном естроген-рецептору 1 кнурів більшість тварин були гетерозиготними носіями бажаного алеля *B*, частота якого становила 0,48. За геном *NCOA1* частота бажаного алеля *A1* становила 0,81, а гомозигот $NCOA1^{A1A1}$ – 74 %.

За об'ємом еякуляту, концентрацією та кількістю спермій в еякуляті кращі показники мали кнури – носії генотипів ESR^{BB} та ESR^{AB} порівняно з аналогами генотипу ESR^{AA} . Тварини з генотипом $ESR^{BB} NCOA1^{A1A1}$ переважали за всіма дослідженими показниками спермопродуктивності кнурів інших генотипів за досліджуваними локусами.

У перспективі подальших досліджень для ефективної реалізації євроінтеграційних кроків в Україні доцільності набуває інтенсифікація типування локусів кількісних ознак свиней, встановлення індивідуальних та породних особливостей їх успадкування та фенотипового прояву асоційованого їх зв'язку із ознаками продуктивними та відтворними якостями тварин.

Список літератури

1. <http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/summary?summ=clas&qtl=11,610&pub=433&trait=649>.
2. Полиморфизм гена эстрогенового рецептора свиноматок различных пород, разводимых в РУСП «СГЦ «Заднепровский» / Т.И. Епишко, И.П. Шейко, О.П. Курак [и др.] // Зоотехническая наука Белоруси : сб. научн. тр. – Жодино, 2005. – Т. 40. – С. 59-63.
3. Зиновьева Н. Сохранение локальных пород / Н. Зиновьева, В. Серов, В. Адаменко // Животноводство России. – 2008. – Спецвыпуск. – С. 16-17.
4. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines / T.H. Short, M.F. Rothschild, O.I. Southwood [et al.] // Anim. Sci. – 1997. – Vol. 75. – P. 3138-3142.
5. A Meishan positive QTL for prolificacy traits found at the *NCOA1* locus on SSC 3 / J.S. Melville, A.M. V. Gibbins, J. A. B. Robinson [et al.] // 7th World congress on genetics applied to livestock production, august 19-23, 2002, Montpellier, France. – <http://cgil.uoguelph.ca/pub/7WCGALP/Melville.pdf>.
6. Заболотная А.А. Влияние частот генов-маркеров многоплодия на продуктивность хряков / А.А. Заболотная, С.С. Сбродов // Перспективное свиноводство: Теория и практика. – 2012. – № 4. – С. 22–24.

References

1. <http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/summary?summ=clas&qtl=11,610&pub=433&trait=649>.
 2. Polimorfizm gena estrogenovogo retseptora svinomatok razlichnyh porod razvodimyh v RUSP "SGC" Zadneprovsky"/ T.I. Epishko, I.P. Sheyko, O.P. Kurak [i dr.] // Zootehnichnaya nauka Belorusi: sb. nauchn. tr. – Zhodino, 2005. – T.40. – S. 59-63.
 3. Zinovieva N. Sohranenie lokalnyh porod / N. Zinovieva, V. Serov, V. Adamenko // Zhivotnovodstvo Rossii. – Spetsvypusk. – 2008. –
-

Spetsvypusk. – S. 16-17.

4. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines / T.H. Short, M.F. Rothschild, O.I. Southwood [et al.] // Anim. Sci. – 1997. – Vol. 75. – P. 3138-3142.
 5. A Meishan positive QTL for prolificacy traits found at the *NCOA1* locus on SSC 3 / J. S. Melville, A. M. V. Gibbins, J. A. B. Robinson [et al.] // 7th World congress on genetics applied to livestock production, august 19 – 23, 2002, Montpellier, France. – <http://cgil.uoguelph.ca/pub/7WCGALP/Melville.pdf>
- Zabolotnaya A.A. Vliyanie chastot genov-markerov mnogoplodiya na produktivnost hryakav / A.A. Zabolotnaya, S.S. Sbrodov // Perspektivnoe svinovodstvo : Teoriya i praktika. – 2012. – № 4. – S. 22–24.

Драгулян Мария Валерьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины

Костенко Светлана Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент

Национальный университет биоресурсов и природоиспользования Украины

Сидоренко Елена Васильевна, кандидат с.-х. наук, заведующий сектором

Джус Павлина Петровна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией

Институт разведения и генетики животных им.М.В.Зубца НААН Украины

svitlanakasijan@ukr.net

ОЦЕНКА СПЕРМОПРОДУКТИВНОСТИ ХРЯКОВ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПО ГЕНАМ *ESR1* И *NCOA1*

Проведен молекулярный анализ хряков крупной белой породы по генам рецептора эстрогена 1 и коактиватора *A1* ядерных рецепторов. В группе исследованных животных установлена высокая частота желательных аллелей *B* локуса *ESR1* и *A1* локуса *NCOA1*. Среди исследованных по гену эстроген-рецептора 1 хряков большинство животных были гетерозиготными носителями желательного аллеля *B*, частота которого составляла 0,48. По гену *NCOA1* частота желательного аллеля *A1* составляла 0,81, а гомозигот *NCOA1^{A1A1}* - 74%.

По объему эякулята, концентрации и количеству сперматозоидов в эякуляте лучшие показатели имели хряки - носители генотипов *ESR^{BB}* и *ESR^{AB}* по сравнению с аналогами генотипа *ESR^{AA}*. Животные с генотипом *ESR^{BB} NCOA1^{A1A1}* были лучше других генотипов по исследуемым локусам по всем исследованным показателям спермопродуктивности хряков.

Ключевые слова: хряки, крупная белая порода, спермопродуктивность, гены *ESR1* и *NCOA1*.

Drahulyan Maria, Candidate of biological Sciences, Researcher
Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
Kostenko Svetlana, Candidate of biological Sciences, assistant professor
National University of Life and prirodoispolzovanija Ukraine
Sydorenko Elena, Candidate of Agricultural Sciences, Head of the Sector
Juice P.P., Candidate of biological Sciences, Head of the Laboratory
Institute of Animal Breeding and Genetics im.M.V.Zubtsa NAAS of Ukraine
svitlanakasijan@ukr.net

EVALUATION SEMEN PRODUCTION OF LARGE WHITE BREED BOARS OF DIFFERENT GENOTYPES BY GENES ESR1 AND NCOA1

A molecular analysis of Large White breed boars of genes estrogen receptor coactivator 1 and A1 nuclear receptors. In the group tested animals found a high frequency of desirable alleles in locus *ESR1* and *AI* locus *NCOA1*. It was found that the producers with complex genotype $ESR^{BB} NCOA1^{A1A1}$ dominated animals carrier genotypes other quantitative and qualitative indicators semen production.

Among the studied gene estrogen receptor 1 boars most animals were heterozygous carriers of the desired allele *B*, whose frequency is 0,48. *NCOA1* gene frequency of the desired allele *AI* was 0,81, and homozygotes $NCOA1^{A1A1}$ – 74%.

By volume of ejaculate, concentration, and the number of sperm in the ejaculate best indicators were grunts - genotype ESR^{BB} and ESR^{AB} and compared with similar genotype ESR^{AA} . Animals with the genotype $ESR^{BB} NCOA1^{A1A1}$ were better than other genotypes studied loci in all investigated parameters boars semen production.

Keywords: boars, Large White breed, semen production, genes *ESR1* and *NCOA1*.

*Рецензент: Польовий Л.В., доктор с.-г. наук, професор,
Вінницький національний аграрний університет*