

ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ РЕЦЕПТОРІВ ЕСТРОГЕНУ ТА ПРОЛАКТИНУ НА СПЕРМОПРОДУКТИВНІСТЬ КНУРІВ ВЕЛИКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ

С.О. Костенко, канд. біол. наук

Національний університет біоресурсів і природокористування
України

О.В. Сидоренко, канд. с-г. наук

Інститут розведення і генетики тварин НААН України

М.В. Драгуляч

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України

Проведено генетичний аналіз кнурів великої білої породи за генами рецепторів пролактину та естрогену. Частота бажаного генотипу BB гену ESR у кнурів становила $0,10 \pm 0,06$, генотипу AB – $0,76$, алелю B – $0,52$. Частота бажаного генотипу AA гену PRLR – $0,29 \pm 0,11$, AB – $0,18$, BB – $0,53$, алелю A – $0,38$. Досліджений розподіл частот генотипів не відповідає теоретично очікуваному згідно закону Харді-Вайнберга. Найвищі показники спермопродуктивності спостерігали у кнурів-носіїв генотипу BBBB. Таким чином, алелі B генів ESR і PRLR є бажаними для показників спермопродуктивності.

Ключові слова: *Sus scrofa*, велика біла порода, ESR, PRLR, ген естроген рецептору, ген пролактин рецептору, спермопродуктивність

Одним з основних завдань племінної роботи у свинарстві є поліпшення відтворних якостей тварин. Традиційно виявлення племінної цінності тварин здійснюється шляхом оцінки їх фенотип, що не дає повної картини про генетичний потенціал тварини. Використання в селекції методів, що базуються на маркер-допоміжній селекції (MAS) дозволяє визначати генотипи свиней за генами, що асоційовані з показниками їх відтворних якостей [2]. Застосування штучного осіменіння призводить до збільшення кількості нащадків у самців в порівнянні з самками. Так, за одним плідником може бути

закріплено 200 самок [1]. В зв'язку з цим при відборі плідників до відтворних якостей слід висувати суворі вимоги.

Відомо, що гени рецепторів естрогену (*ESR*) та пролактину (*PRLR*) належать до головних генів, які контролюють приплід у свиней [2,3,5,6]. Данні щодо впливу поліморфізму цих генів (окремих та комбінованих генотипів) на показники спермопродуктивності кнурів залишаються недостатньо вивченими. Так, відомо, що алель *A* гену *PRLR* асоційований із показниками відтворних якостей свиней [2]. Польські дослідники Marek Kmiec та Arkadiusz Terpan, досліджуючи поліморфізм кнурів ландрасів польської селекції ($n=62$) на предмет зв'язку із їх власною спермопродукцією, виявили достовірне збільшення концентрації сперміїв в еякуляті на $41 \times 10^6/\text{см}^3$ у кнурів із генотипом *AA*, порівняно із тваринами-носіями генотипу *BB*. Об'єм еякуляту у кнурів генотипу *BB* був вище на $8,1\text{см}^3$, ніж у тварин із генотипом *AA*. Найвищий показник спермопродуктивності за об'ємом еякуляту спостерігався у кнурів-носіїв гетерозиготного генотипу – $242,4 \pm 7,0 \text{ см}^3$, що на $8,7\text{см}^3$ більше, ніж у тварин гомозиготного генотипу *AA* [6].

Сідоренко О.В. виявила, що у кнурів великої білої породи найбільший об'єм еякуляту характерний для носіїв генотипу *BB* гену *ESR* – 299,95 мл, який має переваги над аналогами з генотипом *AA* на 62,61 мл [5]. Концентрація сперміїв в еякуляті у кнурів з генотипом *BB* становить 35,40 млрд/мл з перевагою на 2,66 млрд/мл над носіями генотипу *AA*. Кількість сперміїв в еякуляті у носіїв генотипу *BB* – 82,0 млрд, статистично достовірно переважала ($p < 0,05$) гетерозиготних кнурів (*AB*) на 12,75 млрд. Активність сперміїв у гомозиготних тварин (*AA*) та (*BB*) була краща, ніж у гетерозигот та становила 7,94 та 7,95 бали відповідно.

Але до цього часу недостатньо вивчено вплив окремих генотипів та їх комбінацій на спермопродуктивність кнурів. На жаль, на сьогодні в Україні в селекції мало використовуються результати молекулярно-генетичного аналізу. Розподіл частот алелів та генотипів генів *ESR* і *PRLR* у породах свиней української селекції досі нез'ясовані, основна частина племінних тварин залишається недослідженою.

Тому **мета досліджень** полягала у генетичному аналізі кнурів-плідників великої білої породи та встановленні зв'язків між генотипами генів *ESR* і *PRLR* та якістю спермопродукції.

Матеріали і методи. Аналізували кнурів великої білої породи СВАО «АК «Калита» Київської області ($n=17$). Генетичний аналіз зроблено в Інституті розведення і генетики тварин НААН України. Геномну ДНК виділяли з волоссяних фолікулів за допомогою комплекту реактивів «ДНК-сорб В» (АмпліСенс, Росія) за

рекомедаціями виробника. Генотипування свиней проводили методом ПЛР-ПДРФ (полімеразна ланцюгова реакція, поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів) за методикою, описаною Українською лабораторією якості і безпеки продукції агропромислового комплексу НУБіП України [4].

Аналіз якості спермопродукції кнурів оцінювали за допомогою матеріалів первинного зоотехнічного обліку. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою програми Excel 2007.

Результати досліджень. Частоти генотипів, виявлені у кнурів за геном рецептору естрогену та рецептором пролактину, розміщені у таблиці 1. Частота бажаного генотипу *BB* за геном *ESR* у кнурів великої білої породи, які утримуються в СВАТ «АК «Калита», становила 0,10, генотипу *AB* – 0,76, алелю *B* – 0,52. В попередніх дослідженнях кнурів СВАТ «АК «Калита» О.В. Сидоренко виявила, що частота генотипу *BB* була 0,11, *AB* – 0,75, алелю *B* – 0,43. За дослідженнями Калайчакової О. (Росія) у кнурів великої білої породи частота носіїв генотипу *AB* становила 0,46, генотипу *BB* – 0,21, алелю *B* – 0,44 [3].

Таблиця 1. Частоти генотипів та алелів генів рецепторів естрогену і пролактину

Порода	Кількість тварин, гол	Генотипи		Алелі	χ^2
<i>ESR</i>	29	<i>AA</i>	0,14±0,06	<i>A</i> 0,48±0,03 <i>B</i> 0,52±0,03	46,38***
		<i>AB</i>	0,76±0,08		
		<i>BB</i>	0,10±0,06		
<i>PRLR</i>	17	<i>AA</i>	0,29±0,11	<i>A</i> 0,38±0,04 <i>B</i> 0,62±0,03	4,47***
		<i>AB</i>	0,18±0,09		
		<i>BB</i>	0,53±0,12		

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

Ми також проаналізували показники спермопродукції кнурів в залежності від генотипу за двома генами (табл.2).

Аналізуючи показники спермопродуктивності за геном *ESR* у кнурів великої білої породи найбільший об'єм еякуляту спостерігали у носіїв генотипу *BB* – 299,95 мл. За цим показником носії генотипу *BB* переважали кнурів з генотипом *AA* на 62,61 мл. Концентрація сперміїв в еякуляті у кнурів з генотипом *BB* становить 35,40 млрд/мл. Тварини з цим генотипом переважають носіїв генотипу *AA* на 2,66 млрд/мл. У тварин з генотипами *AA* та *AB* кількість сперміїв в еякуляті

59,25 і 69,25 млрд/мл відповідно. За цим показником носії генотипу *BB* статистично достовірно переважали ($p < 0,05$) гетерозиготних кнурів (*AB*) на 12,75 млрд. Активність сперміїв у гомозиготних тварин (*AA*) становить 7,94 бали, у носіїв генотипу *BB* – 7,95 бали, гетерозиготні тварини дещо поступаються – 7,89 балів.

Таблиця 2. Якість спермопродукції кнурів різних генотипів генів *ESR* та *PRLR*

Гено-тип	n (гол.)	Об'єм еякуляту, мл	Концентрація сперміїв в еякуляті, млрд/мл	Кількість сперміїв в еякуляті, млрд	Активність сперміїв, бали
<i>ESR</i>					
<i>AA</i>	4	237,34 ± 43,79	0,33 ± 0,03	59,25 ± 7,91	7,94 ± 0,06
<i>AB</i>	21	262,93 ± 12,85	0,33 ± 0,02	69,25 ± 5,13*	7,89 ± 0,06
<i>BB</i>	2	299,95 ± 34,70	0,35 ± 0,03	82,00 ± 2,73*	7,95 ± 0,03
<i>PRLR</i>					
<i>AA</i>	5	246,01 ± 28,76	0,24 ± 0,01	48,61 ± 13,26	7,93 ± 0,05
<i>AB</i>	3	255,49 ± 10,24	0,32 ± 0,02	84,43 ± 9,9	7,98 ± 0,009
<i>BB</i>	9	271,77 ± 26,49	0,33 ± 0,02	92,46 ± 12,41	7,98 ± 0,005

* $p < 0,05$

Частота бажаного генотипу *AA* за геном *PRLR* у кнурів великої білої породи, які утримуються в СВБТ «АК «Калита», становила 0,29, генотипу *AB* – 0,18, алелю *A* – 0,38. За дослідженнями Коновал О. (Україна) у кнурів великої білої породи частота носіїв генотипу *AA* становила 0,29, алелю *A* – 0,57 [4]. Найбільший об'єм еякуляту ми спостерігали у носіїв генотипу *BB* – 271,77 мл, у тварин з генотипами *AA* та *AB* – 246,01 і 255,49 мл відповідно. За цим показником тварини з генотипом *BB* переважали кнурів з генотипом *AA* на 25,76 мл. Концентрація сперміїв в еякуляті у тварин з генотипом *BB* становить 0,33 млрд/мл, у носіїв генотипів *AA* та *AB* – 0,24 і 0,32 мл, відповідно. Тварини з генотипом *BB* переважають носіїв генотипу *AA* на 0,09 млрд/мл. Активність сперміїв у тварин з генотипами *BB* і *AB* становить 7,98 бала, у носіїв гомозигот *AA* – 7,93 бали. Таким чином носії генотипів *BB* та *AB* двох досліджених генів переважають тварин з генотипом *AA* за всіма показниками спермопродукції.

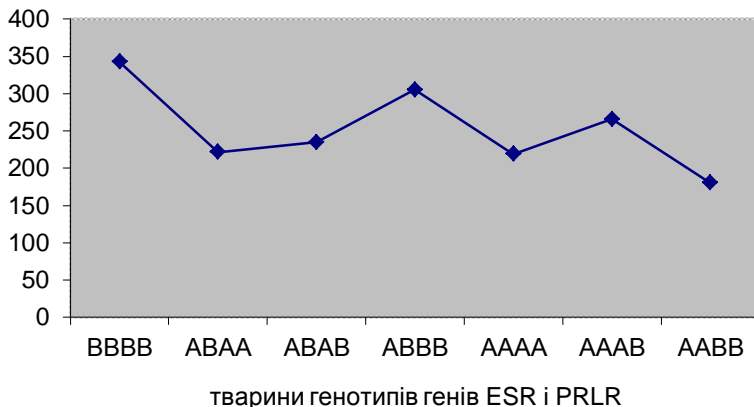
Серед 9 можливих генотипів *ESR/PRLR* у тварин знайдені лише 7 (*BB/AA* і *BB/AB* не виявлені). Таблиці 1, 2, 3 свідчать, що концентрація сперміїв в еякуляті вища у тварин, де у генотипі присутній алель *B* гену *PRLR*. Об'єм еякуляту більший у кнурів, у генотипі яких присутній алель *A* гену *ESR*. Активність сперміїв теж більша при наявності бажаного за двома генами алелю (*B* гену *PRLR* і *A* гену *ESR*).

Таблиця 3. Показники спермопродуктивності кнурів генотипів *ESR* та *PRLR*

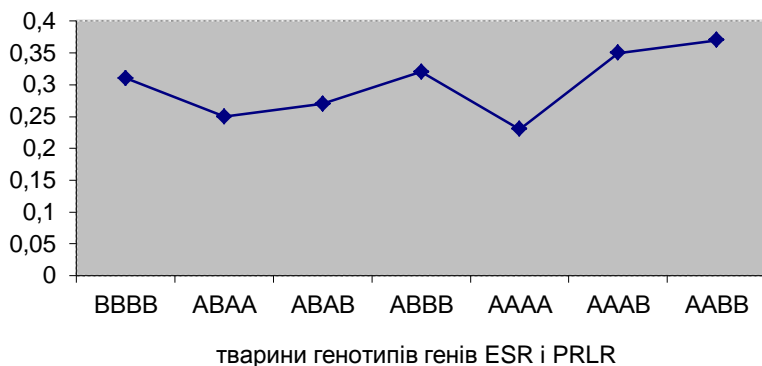
Генотип		n (гол)	Показники спермопродукції кнурів			
<i>ESR</i>	<i>PRLR</i>		Об'єм еякуляту, мл	Концентрація спермій в еякуляті, млрд./мл	Кількість спермій, млрд	Активність спермій, бали
<i>BB</i>	<i>BB</i>	2	342,5±0,0	0,31±0,01	96,6±11,7	7,99±0,01
<i>AB</i>	<i>AA</i>	3	221,6±21,6	0,25±0,01	102,3±17,9	7,98±0,01
<i>AB</i>	<i>AB</i>	1	235,0	0,27	27,5	8,0
<i>AB</i>	<i>BB</i>	4	305,4±21,57	0,32±0,03	55,98±6,9	7,98±0,01
<i>AA</i>	<i>AA</i>	2	219,0±10,05	0,23±0,01	75,4±0,30	7,77±0,0
<i>AA</i>	<i>AB</i>	2	265,74±0,0	0,35±0,01	94,3±0,0	7,97±0,02
<i>AA</i>	<i>BB</i>	2	180,52±29,10	0,37±0,04	64,6±14,17	8,00±0,002

Розглядаючи комбінації генотипів за генами *ESR* та *PRLR* слід відмітити, що об'єм еякуляту кнурів великої білої породи з генотипом *AB/AA* за геном *ESR* та *PRLR* вища на 41,1 мл., ніж у кнурів з небажаним генотипом *AA/BB*. Об'єм еякуляту та концентрація спермій в еякуляті вища у кнурів генотипу *BB/BB* (*ESR/PRLR*) у порівнянні із тваринами генотипу *AA/BB* (*ESR/PRLR*) на 161,98 мл. та на 32,0 млрд. відповідно (табл. 3, рис.1,2,3).

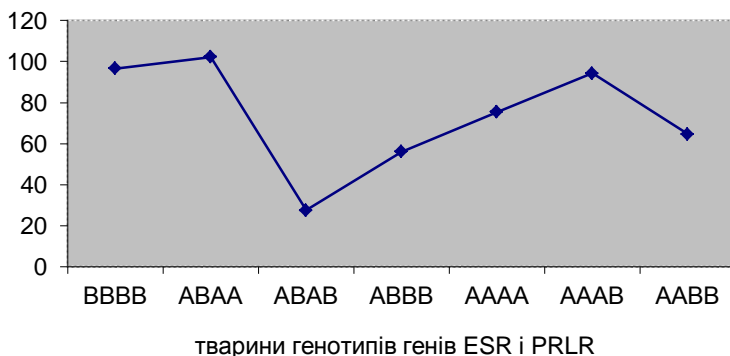
Об'єм еякуляту (мл) у кнурів великої білої породи



Концентрація сперміїв в еякуляті (млрд/мл) у кнурів великої білої породи



Кількість сперміїв в еякуляті (млрд) у кнурів великої білої породи



Слід відмітити, що ефекти впливу комбінованих генотипів *ESR* та *PRLR* на концентрацію сперміїв в еякуляті більші за ефект кожного окремого гену, тому використання результатів генотипування може мати значні наслідки для селекційного процесу. Враховуючи сукупний вплив генотипів, їх частота може стати критерієм в оцінці ефективності селекції, як напрямку генетичного поліпшення порід та популяцій.

Серед іноземних комерційних порід свиней генотип *AA* гену *PRLR* зустрічається досить часто [6-8], на відміну від досліджених нами

кнурів.

Таким чином, ефект впливу комбінованих генотипів кнурів на їх репродуктивну функцію більший, ніж ефект одного чи двох, але ізольованих генів, тому результат одночасного генотипування за *PRLR* і *ESR* може суттєво прискорити селекційний процес, спрямований на покращення показників спермопродуктивності. Сукупний ефект генотипів, частота комбінованих генотипів можуть стати критерієм в оцінці генетичного поліпшення окремих порід та їх популяцій.

Висновки. Найвищі показники спермопродуктивності встановлено у кнурів-носіїв генотипу *BBBB*. Алелі *B* генів *ESR* і *PRLR* є бажаними для показників спермопродуктивності.

Оскільки ефекти генотипів окремих генів *PRLR*, *ESR* або їх комбінації можуть бути неоднаковими у тварин різних порід свиней, у зв'язку з тим, що кожна порода має свій генетичний фон, який може контролюватися не тільки цими двома генами, але й іншими (ефект плейотропії), **перспективи подальших досліджень** стосуються вивчення їх впливу на репродуктивні якості свиней інших порід.

Робота виконана за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень України.

Список використаної літератури

1. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології / [В.А. Яблонський, С.П.Хомин, Г.М.Калиновський та ін.], за ред. А. Яблонського, С.П.Хомин. – Вінниця : Нова книга, 2006 – 592 с.
2. Епишко О. А. Гены, детерминирующие воспроизводительную функцию свиноматок / О. А. Епишко // Весці нацыянальнай акадэміі навук Бэларусі. — 2008. — № 2. — С. 81–85.
3. Калайчакова О. Популяционно-генетический анализ гена *ESR* свиней / О. Калайчакова // Животноводство России [спецвыпуск свиноводство]. – 2008 – С. 19.
4. Коновал О. М. Ідентифікація аельних варіантів генів *ESR* та *MC4R*, які впливають на господарсько-корисні ознаки свині свійської *Sus scrofa*, L. / О. М. Коновал, С. О. Костенко, В. Г. Спиридонов, С. Д. Мельничук // К. : Видавничий центр НУБіП України. — 2008. — 24 с.
5. Сидоренко О.В. Поліморфізм генів рецепторів естрогену (*ESR*) і меланокортину-4 (*MC4R*) у свиней / О.В.Сидоренко // Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук 03.00.15 – генетика, Чубинське – 2011.- 20 с.

6. Kmieac M. Study on a relation between estrogen receptor (*ESR*) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed / M. Kmieac, J. Dvorak, I.Vrtkova // Czech J. Anim. Sci. – 2002. –

Vol. 47, № 5. – P. 189 – 193.

7. Lopez S.H.H. Efecto de genes candidatos sobre características reproductivas de hembras porcinas / Silvia Hortencia Hernandez Lopez, Clemente Lemus Flores, Rogelio Alonso // Revista Científica, FCV-LUZ. – 2006. – Vol. XVI. – №6. – P. 648-654.

8. Omelka R. Simultaneous Detection of Malignant Hyperthermia and Genetic Predisposition for Improved Litter Size in Pigs by Multiplex PCR-RFLP / R. Omelka, D. Vašieek, M. Martiniakova, J. Bulla and M. Bauerova // Folia biologica (Krakow). – 2004. – Vol. 52. – №1-2. – P. 115-118.