



Влияние однонуклеотидной замены rs317093289 в гене рецептора фолликулостимулирующего гормона на продуктивность исходной линии породы плимутрок бройлерного кросса «Смена 9»

Егор Игоревич Куликов, Рубен Ваагнович Карапетян, Людмила Георгиевна Коршунова, Алексей Сергеевич Комарчев, Вера Николаевна Мартынова, Арина Константиновна Кравченко

ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН)

Аннотация: В репродуктивной системе одну из главных ролей играет фолликулостимулирующий гормон (FSH). Поскольку FSH действует только через свой рецептор (FSHR), механизмы, контролирующие экспрессию этого рецептора, определяют чувствительность клеток к гормону. Была проанализирована однонуклеотидная замена (SNP) rs317093289 у исходной линии CM9 породы плимутрок кросса «Смена 9». Наиболее часто встречающимся (42% среди исследованных кур) является генотип ТА, генотип ТТ встречается с частотой 24%, а генотип АА – 34%. По массе яиц в 210-дневном возрасте птица с генотипом ТА превосходила птицу с генотипом АА на 2,4%, группа с генотипом ТТ была приближена к группе ТА, разность между группами ТТ и ТА недостоверна. Изучаемый SNP оказал значимый эффект на показатели яйценоскости. Генотип ТА превосходил генотип ТТ по количеству снесенных яиц за 210 и 308 дней на 15,0 и 2,8% соответственно.

Ключевые слова: мясные куры, геномная селекция, однонуклеотидные замены (SNP), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), рецептор ФСГ, яичная продуктивность.

Для цитирования: Куликов, Е.И. Влияние однонуклеотидной замены rs317093289 в гене рецептора фолликулостимулирующего гормона на продуктивность исходной линии породы плимутрок бройлерного кросса «Смена 9» / Е.И. Куликов, Р.В. Карапетян, Л.Г. Коршунова, А.С. Комарчев, В.Н. Мартынова, А.К. Кравченко // Птицеводство. – 2022. – №11. – С. 4-8.

doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-11-4-8

Введение. В репродуктивной системе одну из главных ролей играет фолликулостимулирующий гормон (FSH), который воздействует через свой рецептор (FSHR). FSH – гликопротеиновый гормон гипофиза, который является неотъемлемой частью эндокринной оси и регулирует функцию гонад и фертильность. FSH стимулирует рост фолликулов, активизирует деление и функционирование клеток гранулезы, которые находятся во круг развивающегося ооцита в фолликуле и питают его [7]. У особей мужского пола FSH вызывает деление клеток Сертоли на ранних этапах жизни, тем самым, принимая

участие в сперматогенезе. Также есть сведения о том, что FSH имеет важнейшее значение для стероидогенеза.

FSHR – специфический трансмембранный рецептор, расположенный на клетках-мишенях. Он входит в гликопротеиновое семейство рецепторов, связанных с G-белком. Впервые удалось клонировать последовательность кДНК FSHR в 1996 г. из ткани куриных яичников. Данную последовательность проанализировали и представили результаты в 2005 г. Ген FSHR у кур находится в 3 хромосоме и состоит из 15 экзонов с пятью известными изоформами.

Выяснилось, что FSHR избирательно экспрессируется в клетках Сертоли и гранулезах яичников, и что уровень его экспрессии взаимосвязан с дифференцировкой и созреванием половых клеток [5,10].

Уровень экспрессии мРНК FSHR на разных стадиях развития фолликулов имеет отрицательную корреляцию с размером фолликулов. Вероятнее всего, большая стимуляция FSH необходима мелким фолликулам, поэтому самое большое содержание мРНК FSHR наблюдалось в клетках гранулезы [2,4,8].

Мутации в различных участках гена FSHR являются первопричинами большого числа репродуктивных



дисфункций и могут приводить как к снижению чувствительности FSHR к гонадотропину, другими словами, слабому ответу яичников на FSH, так и к повышенной чувствительности FSHR к гормону [12].

Кроме того, полиморфизмы в промоторе гена FSHR кур могут влиять на транскрипцию FSHR и на яйценоскость. В нескольких исследованиях были обнаружены причинные мутации ДНК в промоторной области гена FSHR, связанные с формированием яйца. Эти мутации влияют на экспрессию генов. Сообщалось также, что паттерн экспрессии белка в ткани яичников связан с выработкой яйцеклеток. Исследования на курах показали, что мутация в гене 1 IL-2 нарушает структуру белка [1,3].

Единичные полиморфные нуклеотиды (SNPs) – это участки последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G или С), различающиеся в геноме представителей одного вида или между гомологичными участками гомологичных хромосом. Замена единичных нуклеотидов – распространенное явление: примерно один SNP на каждые 200 оснований. У кур определено порядка 20 млн. SNP, рассеянных по всему геному. Обнаружение многочисленных SNP в генах животных, совершенствование процесса секвенирования, а также развитие вычислительных методов анализа позволило использовать геномную оценку в птицеводстве [15]. Проводились исследования с использованием секвенирования, которые доказали существование в промоторе гена FSHR 11 однонуклеотидных полиморфизмов [6,9].

Кросс «Смена 9» состоит из двух линий породы корниш отцовской родительской формы – СМ5 и СМ6, и двух линий материнской формы породы плимутрок – СМ7 и СМ9. Отцовская линия мате-

Таблица 1. Праймеры и зонды

rs317093289	
Прямой праймер	TTCTCAGCAAGTTTCAGTTC
Обратный праймер	TTCCACTGTAGATACGCAC
Зонд для аллеля А	ACTCCAGTATA TT
Зонд для аллеля Т	ACTCCAGTATA AT

ринской формы имеет высокое качество суточного молодняка и низкие затраты корма [11]. Материнская родительская форма аутосексна по маркерному гену К-к. Отцовские формы отличаются большей живой массой, обмускуленностью груди и ног, сниженными затратами корма [14].

Линия СМ9 является материнской прародительской формой породы плимутрок с медленным типом оперения. Аутосексная материнская родительская форма породы плимутрок получается путем скрещивания отцовской прародительской линии СМ7 с генотипом кк (быстрооперяющийся) с линией СМ9 с генотипом К- (медленнооперяющийся). Точность разделения суточных цыплят материнской родительской формы СМ79 на петушков и курочек по маркерным генам медленной и быстрой оперяемости составляет 99,6% [13].

Целью исследования было проанализировать частоту однонуклеотидной замены для rs317093289 в гене FSHR у кур линии СМ9 и установить ее возможную связь с показателями продуктивности.

Материал и методика исследований. Эксперимент проводился на базе СГЦ «Смена». Методом случайной выборки была отобрана 91 голова исходной линии СМ9 кросса «Смена 9». Птица содержалась на глубокой подстилке. Основные технологические параметры соответствовали используемым нормам, которые применяют на СГЦ «Смена» [13].

Забор крови осуществлялся из подкрыльцовой вены в пробирки типа Эппендорф 1,5 мл с добав-

лением цитрата натрия в качестве антикоагулянта.

Из 91 образца крови была выделена ДНК при помощи коммерческих наборов для выделения нуклеиновых кислот ExtractDNA Blood & Cells (Евроген, Россия). Контроль содержания ДНК и чистоты образцов проводили при помощи спектрофотометра NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, США).

Подбор праймеров и зондов для идентификации однонуклеотидного полиморфизма rs317093289 в геноме кур производился при помощи базы данных Ensembl, а также программ GeneRunner и Oligo Analyzer (табл. 1).

Для проведения ПЦР использовали амплификатор QuantStudio 5 Real-Time PCR (Thermo Fisher Scientific, США). Режим амплификации для rs317093289: стадия удержания 05 мин. 00 сек., 95°C (1 цикл); стадия ПЦР 00 мин. 30 сек., 95°C; 00 мин. 30 сек., 56°C; 00 мин. 30 сек., 72°C (40 циклов).

Определение аллелей производилось при помощи зондов типа TaqMan с красителями FAM и VIC (рис. 1).

По продуктивности птицы учитывались следующие показатели: живая масса в 35 дней жизни, г; яйценоскость за 210 дней, шт.; средняя масса яйца в 210 дней жизни, г; возраст наступления половой зрелости, дни; яйценоскость за 308 дней, шт.

Результаты исследований и их обсуждение. Наиболее часто встречающимся среди исследованных кур линии СМ9 является генотип ТА (42%), генотип ТТ встречается на 18% реже, а генотип АА –



разность между группами ТТ и ТА не достоверна. Изучаемый SNP оказал значимый эффект на показатели яйценоскости: генотип ТА превосходил генотип ТТ по количеству снесенных яиц за 210 и 308 дней на 15,0 и 2,8% соответственно. Генотип АА по яичной продуктивности занял промежуточную позицию, приближаясь к результатам группы ТА. Статистически значимых различий между генотипом АА и другими генотипами по данному показателю получено не было.

Заключение. Частота генотипов ТТ, ТА и АА по SNP rs317093289 в гене FSHR у кур линии СМ9 составила соответственно 24, 42 и 34%; встречаемость аллеля Т была несколько выше, чем А (55 против 45%). Наилучшие результаты по яичной продуктивности были получены у птицы с гетерозиготным генотипом ТА. Максимальное приближение к лучшему результату по средней массе яйца было получено у группы ТТ, а по яйценоскости – у генотипа АА.

Согласно схеме получения кросса «Смена 9», в материнской форме СМ79 скрещиваются отцовская форма СМ7 и материнская СМ9. Максимальные воспроизводительные качества критически важны для двухлинейного гибрида СМ79.

По нашему мнению, для получения стабильно высокого результата по воспроизводительным качествам следует при проведении селекционной работы с линией

на 8% реже (табл. 2). Разность частоты встречаемости аллелей составляет 10% с преобладанием аллеля Т над А.

Изучаемый в данном исследовании SNP rs317093289 оказал статистически значимый эффект на живую массу кур в возрасте 35 дней (табл. 3). Живая масса кур с генотипом ТТ превосходила ге-

нотипы ТА и АА на 3 и 14 г соответственно. На возраст наступления половой зрелости статистически значимого влияния изучаемого SNP не выявлено.

По массе яиц в 210-дневном возрасте птица с генотипом ТА превосходила птицу с генотипом АА на 2,4%, группа с генотипом ТТ была приближена к группе ТА,

Таблица 2. Частота генотипов и аллелей по SNP rs317093289 у кур породы плимутрок линии СМ9

Генотип	Голов	Частота генотипа	Частота встречаемости аллеля
ТТ	22	0,24	А
ТА	38	0,42	Т
АА	31	0,34	
Итого	91	1,00	

Таблица 3. Ассоциация генотипов rs317093289 с показателями продуктивности у кур породы плимутрок линии СМ9

Показатель продуктивности	Генотип		
	ТТ	ТА	АА
Живая масса в 35 дней, г	1901±0,01 ^А	1898±0,01 ^В	1887±0,01 ^С
Возраст наступления половой зрелости, дни	184,3±1,02	182,3±1,12	181,9±1,03
Масса яиц в возрасте 210 дней, г	58,2±0,56 ^{АВ}	58,4±0,46 ^В	56,8±0,47 ^А
Яйценоскость за 210 дней, шт.	20,2±0,96 ^А	23,4±0,96 ^В	22,4±1,02 ^{АВ}
Яйценоскость за 308 дней, шт.	96,6±2,06 ^А	99,3±1,51 ^В	97,8±2,16 ^{АВ}

Примечание: Разность между средними значениями в группах, обозначенными разными буквами, достоверна при $p \geq 0,95$.

СМ9 отдавать предпочтение птице с генотипом АА. При формировании родительских стад следует отбирать петушков СМ7 с генотипом ТТ. В таком случае куры материнской формы СМ79 будут иметь

генотип ТА, ассоциированный с более высокими воспроизводительными качествами.

Исследования выполнены в соответствии с государственным заданием по теме

«Разработать селекционно-генетические методы повышения выхода племенной и товарной продукции от сельскохозяйственной птицы» (№ гос. рег. 121030100022-8).

Литература / References

1. Cui, H. FSH stimulates lipid biosynthesis in chicken adipose tissue by upregulating the expression of its receptor FSHR / H. Cui, G. Zhao, R. Liu, M. Zheng, J. Chen, J. Wen // J. Lipid Res. - 2012. - V. 53. - No 5. - P. 909-917. doi 10.1194/jlr.M025403.
2. Wakabayashi, N. The cDNA cloning and transient expression of a chicken gene encoding a follicle-stimulating hormone receptor / N. Wakabayashi, A. Suzuki, H. Hoshino, K. Nishimori, S. Mizuno // Gene. - 1997. - V. 197. - No 1-2. - P. 121-127. doi 10.1016/s0378-1119(97)00250-3.
3. Kurnia, R.R. The association of follicle stimulating hormone receptor (FSHR) gene polymorphism of on egg productivity in hybrid chicken (*Gallus gallus gallus*, Linnaeus 1758) / R.R. Kurnia, I. Lesmana, A.R. Ernanto, Trijoko, B.S. Daryono // Biodivers. J. Biol. Divers. - 2021. - V. 22. - No 3. doi 10.13057/biodiv/d220318
4. Wang, Y. Transcriptome analysis on single small yellow follicles reveals that Wnt4 is involved in chicken follicle selection / Y. Wang, Q. Chen, Z. Liu, X. Guo, Y. Du, Z. Yuan, M. Guo, L. Kang, Y. Sun, Y. Jiang // Front. Endocrinol. - 2017. - V. 8. - P. 317. doi 10.3389/fendo.2017.00317.
5. Li, X. Identification of chicken FSHR gene promoter and the correlations between polymorphisms and egg production in Chinese native hens / X. Li, Y. Lu, X. Liu, X. Xie, K. Wang, D. Yu // Reprod. Domest. Anim. - 2019. - V. 54. - No 4. - P. 702-711. doi 10.1111/rda.13412.
6. Ismoyowati, I. Egg production characteristic and the study of follicle-stimulating hormone receptor gene on various of Sentul chicken / I. Ismoyowati, D.M. Saleh, I. Suswoyo // Adv. Biol. Sci. Res.: Proc. Intl. Conf. on Improving Tropical Animal Production for Food Security (ITAPS 2021). - Atlantis Press, 2022. - P. 4-9. doi 10.2991/absr.k.220309.002.
7. Li, G. Genetic effect of the follicle-stimulating hormone receptor gene on reproductive traits in Beijing You chickens / G. Li, D.X. Sun, Y. Yu, W.J. Liu, S.Q. Tang, Y. Zhang, Y.C. Wang, S.L. Zhang, Y. Zhang // Poult. Sci. - 2011. - V. 90. - No 11. - P. 2487-2492. doi 10.3382/ps.2010-01327.
8. Huang, S.J. Effect of anti-müllerian hormone on the development and selection of ovarian follicle in hens / S.J. Huang, L. Purevsuren, F. Jin, Y.P. Zhang, C.Y. Liang, M.Q. Zhu, F. Wang, C.L. Jia, Z.H. Wei // Poult. Sci. - 2021. - V. 100. - No 3. - P. 100959. doi 10.1016/j.psj.2020.12.056.
9. Li, X. Identification of chicken FSHR gene promoter and the correlations between polymorphisms and egg production in Chinese native hens / X. Li, Y. Lu, X. Liu, X. Xie, K. Wang, D. Yu // Reprod. Domest. Anim. - 2019. - V. 54. - No 4. - P. 702-711. doi 10.1111/rda.13412.
10. George, J.W. Current concepts of follicle-stimulating hormone receptor gene regulation / J.W. George, E.A. Dille, L.L. Heckert // Biol. Reprod. - 2011. - V. 84. - No 1. - P. 7-17. doi 10.1095/biolreprod.110.085043.
11. Ефимов, Д.Н. Оценка хозяйственно полезных характеристик птицы отцовской линии породы плимутрок отечественного кросса «Смена 9» / Д.Н. Ефимов, А.В. Егорова, Ж.В. Емануйлова, А.А. Комаров // Птицеводство. - 2022. - №6. - С. 8-13. [Efimov DN, Egorova AV, Emanuylova ZV, Komarov AA (2022) *Ptitsevodstvo*, (6):8-13; doi 10.33845/0033-3239-2022-71-6-8-13 (in Russ.)]
12. Dan, W. Association of follicle stimulating hormone receptor promoter with ovarian response in IVF-ET patients / W. Dan, G. Jing, X. Liangbin, Z. Ting, Z. Ying // Iran J. Reprod. Med. - 2015. - V. 13. - No 11. - P. 715-720.
13. Руководство по работе с птицей мясного кросса «Смена 9» с аутосексной материнской родительской формой / Д.Н. Ефимов, А.В. Егорова, Ж.В. Емануйлова [и др.]. - Сергиев Посад, 2021. - 95 с. [Efimov DN, Egorova AV, Emanuylova ZV *et al.*] (2021) Manual on Smena-9 Broiler Cross with Autosexing Maternal Line; Efimov DN, Fisinin VI, Eds. Sergiev Posad, 95 pp (in Russ)]
14. Ефимов, Д.Н. Отцовская линия породы корниш селекции СГЦ «Смена»: оценка и отбор по приросту живой массы и затратам корма / Д.Н. Ефимов, Ж.В. Емануйлова, А.В. Егорова, А.А. Комаров // Птицеводство. - 2022. - №5. - С. 19-25. [Efimov DN, Emanuylova ZV, Egorova AV, Komarov AA (2022) *Ptitsevodstvo*, (5):19-25; doi 10.33845/0033-3239-2022-71-5-19-25 (in Russ.)]
15. Коршунова, Л.Г. Молекулярная генетика в селекции сельскохозяйственной птицы / Л.Г. Коршунова, Р.В. Карапетян // Птицеводство. - 2018. - №2. - С. 2-5. [Korshunova LG, Karapetyan RV (2018) Molecular genetics in poultry selection. *Ptitsevodstvo*, (2):2-5 (in Russ.)]



Сведения об авторах:

Куликов Е.И.: специалист отдела СПЦ по птицеводству; kulikovegor33@yandex.ru. **Карапетын Р.В.:** кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела генетики и селекции, зав. лабораторией молекулярной генетики, биотехнологии и искусственного осеменения; ruben@vnitip.ru. **Коршунова Л.Г.:** доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела генетики и селекции; lg@vnitip.ru. **Комарчев А.С.:** кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, зав. отделом СПЦ по птицеводству; kas1380@bk.ru. **Мартынова В.Н.:** специалист отдела СПЦ по птицеводству; mala.vap@mail.ru. **Кравченко А.К.:** специалист отдела СПЦ по птицеводству; arishka7557@gmail.com.

Статья поступила в редакцию 13.09.2022; одобрена после рецензирования 11.10.2022; принята к публикации 19.10.2022.

Research article

**Impact of Single Nucleotide Polymorphism rs317093289
in the Follicle-Stimulating Hormone Receptor (FSHR) Gene on the Productivity
in Plymouth Rock Parental Maternal Line SM9 of Broiler Cross Smena-9**

Egor I. Kulikov, Ruben V. Karapetyan, Liudmila G. Korshunova, Alexey S. Komarchev, Vera N. Martynova, Arina K. Kravchenko

Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences

Abstract. Follicle stimulating hormone (FSH) plays a major role in the reproductive system. Since FSH acts only through its receptor (FSHR) the mechanisms controlling the expression of this receptor determine the sensitivity of cells to the hormone. The single nucleotide polymorphism (SNP) rs317093289 in Plymouth Rock parental maternal line SM9 of broiler cross Smena-9 and its relationships with the reproductive performance were analyzed. It was found that TA genotype is the most common, 42% of 91 chickens examined; TT genotype occurs with a frequency of 24% and AA genotype with 34%. In terms of egg weight at 210 days of age TA birds outperformed AA hens by 2.4%, TT genotype was close to TA, the difference between TT and TA genotypes was not significant. The SNP studied had a significant effect on egg laying performance: TA genotype outperformed TT genotype in the number of laid eggs at 210 and 308 days of age by 15.0 and 2.8% respectively ($p < 0.05$).

Keywords: broiler breeders, genomic selection, single nucleotide polymorphism (SNP), follicle-stimulating hormone (FSH), FSH receptor (FSHR), reproductive performance.

For Citation: Kulikov E.I., Karapetyan R.V., Korshunova L.G., Komarchev A.S., Martynova V.N., Kravchenko A.K. (2022) Impact of single nucleotide polymorphism rs317093289 in the follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) gene on the productivity in Plymouth Rock parental maternal line SM9 of broiler cross Smena-9. Ptitsevodstvo, 71(11): 4-8. (in Russ.)

doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-11-4-8

(For references see above)

Authors:

Kulikov E.I.: Specialist, Center for Selection and Breeding; kulikovegor33@yandex.ru. **Karapetyan R.V.:** Cand. of Biol. Sci., Senior Research Officer of Dept. of Genetics and Selection, Head of Lab. of Molecular Genetics, Biotechnology and Artificial Insemination; ruben@vnitip.ru. **Korshunova L.G.:** Dr. of Biol. Sci., Chief Research Officer of Dept. of Genetics and Selection; lg@vnitip.ru. **Komarchev A.S.:** Cand. of Agric. Sci., Lead Research Officer, Head of Dept., Center for Selection and Breeding; kas1380@bk.ru. **Martynova V.N.:** Specialist, Center for Selection and Breeding; mala.vap@mail.ru. **Kravchenko A.K.:** Specialist, Center for Selection and Breeding; arishka7557@gmail.com.

Submitted 13.09.2022; revised 11.10.2022; accepted 19.10.2022.

© Куликов Е.И., Карапетын Р.В., Коршунова Л.Г., Комарчев А.С., Мартынова В.Н., Кравченко А.К., 2022

