

УДК 636.52/.58:636.082

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ПОПУЛЯЦІЙ КУРЕЙ КРОСУ „ХАЙСЕКС БІЛИЙ”

А.В. ШЕЛЬОВ, кандидат сільськогосподарських наук

В.Г. СПИРИДОНОВ, кандидат біологічних наук

Н.П. ПОНОМАРЕНКО, доктор сільськогосподарських наук

В.П. БОРОДАЙ, доктор сільськогосподарських наук

В.В. МЕЛЬНИК, кандидат сільськогосподарських наук

С.Д. МЕЛЬНИЧУК, доктор біологічних наук

У результаті досліджень генетичної структури двох популяцій курей промислових стад кросу „Хайсекс білий” за використання панелі з п’яти ДНК-маркерів встановлено особливості їх генетичної структури за частотами і кількістю алелей, які визначені мікросателітними маркерами ADL0268, MCW216, LEI0094, ADL0278, MCW248. Отримані дані свідчать про доцільність проведення генетичного контролю птиці при завезенні на територію України.

Ключові слова: генетична структура, популяція, крос, мікросателітні маркери, локус, алель, гетерозиготність

За сучасного стану галузі птахівництва в країні спостерігається інтенсивне використання птиці імпортованих кросів, які надходять від різних фірм і під різними назвами, але часто за своєю генеалогією відрізняються незначно [5]. Зарубіжні селекційні фірми утримують в резерві достатньо продуктивних ліній (до кількох десятків), однак інтенсивно використовують лише окремі з них. За погіршення рівня продуктивності птиці може відбуватися заміна вихідних ліній, тобто структура кросу буде змінена, що може призвести і до зміни якісних характеристик птиці. Тому, при закупівлі племінного молодняку необхідно ретельно його перевіряти. За таких умов виникає нагальна

необхідність скласти каталог показників генетичної структури (генетичних паспортів) ліній імпортованих кросів курей для ідентифікації закупленої птиці та визначення особливостей роботи з нею. Одним з надійних методів ідентифікації порід, ліній, кросів є молекулярно-генетичне типування. Воно є точним, об'єктивним, достатньо швидким та надає можливість провести ідентифікацію генотипів, встановити їх оригінальність і відповідність стандарту при закупівлі племінного матеріалу у вигляді батьківських форм кросів [1, 3].

Оцінка генетичної різноманітності наявного в країні поголів'я яєчних курей поряд з визначенням рівня продуктивності за основними господарськими ознаками забезпечить об'єктивну основу для опису, оцінки генотипів, їх ідентифікації та реєстрації.

Метою наших досліджень було проведення молекулярно-генетичного аналізу популяцій курей кросу „Хайсекс білий”, який є одним з найпоширеніших в Україні.

Методика досліджень. Дослідження проводили на базі відділу молекулярно-діагностичних досліджень Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК Національного університету біоресурсів і природокористування України, який атестований як підприємство (лабораторія) генетичного контролю.

Для дослідження відібрали проби покривного пір'я зі спини у 40 курей промислового стада:

перша група – 20 голів – крос „Хайсекс білий” (ВАТ „Птахофабрика „Україна” Київська область);

друга група – 20 голів – крос „Хайсекс білий” (ВП НУБіП України НД ППЗ ім.Фрузе АР Крим).

Геномну ДНК ізолювали з пульпи покривних пір'їн, використовуючи набори «QIAamp[®] DNA Mini Kit» (Qiagen, Німеччина) згідно з інструкцією виробника.

П'ять мікросателітних локусів (ADL0268, MCW216, LEI0094, ADL0278 та MCW248) відібрали відповідно до рекомендацій Міжнародного комітету товариства генетики тварин (ISAG).

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) застосовували для ампліфікації мікросателітних локусів птиці в стандартних умовах [2, 4]. Продукти ПЛР денатурували формамідом (Sigma) та розділяли методом капілярного електрофорезу на генетичному аналізаторі „ABI Prizm 3130” Genetic Analyzer (Applied Biosystem, США). Розміри алелей визначали за використання програмного забезпечення «Gene Mapper 3.7» (Applied Biosystem, США) із використанням стандарту «Genescan-ROX 500» (Applied Biosystem, США).

Частоти та кількість алелей оцінювали підрахунком та аналізом одержаних генотипів. Теоретичну і фактичну гетерозиготність (Hexp та Hobs), індекс поліморфізму (PIC) та вірогідність виключення помилкового збігу алелей (PE) визначали використовуючи програмне забезпечення Cervus 3.0.3 [6] та PowerStatsV12 (Promega, США).

Результати досліджень. Аналіз результатів досліджень щодо визначення генетичної структури курей двох популяцій кросу „Хайсекс білий” за використання п'яти маркерів (ADL0268, MCW216, LEI0094, ADL0278, MCW248) свідчить про існування відмінностей на рівні популяцій (табл.1).

Кількість алелей в обох досліджуваних популяціях коливалась у межах від 3 до 6 в першій популяції та 7 – у другій, причому найбільший поліморфізм спостерігали за локусом LEI094 у всіх дослідних групах (6 та 7 алельних варіантів для різних популяцій кросу „Хайсекс білий”). Найменший поліморфізм (по 3 алельні варіанти) виявлено за локусами ADL 278 для обох популяцій та локусом MCW 216 для другої.

За локусом ADL268 алельні варіанти 108, 110, 112 п.н. (з приблизно однаковими частотами) представлено в обох досліджуваних популяціях, 104 і 106 п.н. (з частотою 0,025 і 0,050 відповідно) – тільки у курей першої популяції, а 114 п.н. (з частотою 0,190) – другої. Найвищу частоту спостерігали в алельних варіантах 108 і 110 п.н. в обох групах. З найменшою частотою зустрічається в

першій групі алельний варіант 104 п.н. (0,025), у другій – 112 та 114 п.н. (0,190).

Локус MCW 216 (один з найменш поліморфних локусів) представлений лише чотирма алельними варіантами – 135, 137, 139 та 143 п.н. – у першій та трьома – 139 п.н., 141 п.н. та 137 п.н – у другій групі кросу „Хайсекс білий”.

1. Частоти ідентифікованих алелей у курей кросу „Хайсекс білий”

Маркер	Кількість алелей	Алельні варіанти, п.н. (частоти)		
Перша група (n=20)				
ADL268	5	104 (0,025)	106 (0,050)	108 (0,325)
		110 (0,375)	112 (0,225)	-
MCW216	4	135 (0,075)	137 (0,325)	139 (0,575)
		143 (0,025)	-	-
LEI094	6	247 (0,050)	249 (0,025)	259 (0,550)
		261 (0,250)	263 (0,075)	281 (0,050)
ADL278	3	114 (0,150)	116 (0,675)	118 (0,175)
MCW248	4	211(0,100)	213 (0,750)	215 (0,025)
		217 (0,125)	-	-
Друга група (n=20)				
ADL268	4	108 (0,334)	110 (0,286)	112 (0,190)
		114 (0,190)	-	-
MCW216	3	137 (0,048)	139 (0,785)	141 (0,167)
LEI094	7	245 (0,143)	247 (0,119)	249 (0,071)
		259 (0,071)	261 (0,381)	263 (0,190)
		265 (0,040)	-	-
ADL278	3	108 (0,119)	116 (0,238)	118 (0,643)
MCW248	4	213 (0,310)	215 (0,310)	217 (0,190)
		219 (0,190)	-	-

За локусом MCW 216 у кросу „Хайсекс білий” з найбільшою частотою представлений алельний варіант 139 п.н. (0,575 та 0,785 відповідно для першої та другої груп), за значно меншою часткою інших алельних варіантів. Найменшу частоту встановлено у першій групі кросу алельного варіанта 143 п.н. (0,025), у другій – 137 п.н. (0,048).

Локус LEI094 представлено найбільшою кількістю алельних варіантів – 6-7 варіантів для кросу (247, 249, 259, 261, 263, 281 п.н. – для першої групи та 245, 247, 249, 259, 261, 263, 265 п.н. – для другої групи). Алельний варіант 281 п.н. виявлено лише у птиці першої групи кросу „Хайсекс білий”. Найвищі частоти встановлено для алельних варіантів 259 п.н. (0,550) – для першої та 261 п.н. (0,381) – для другої групи. Найменшу частоту спостерігали у першій групі кросу алельного варіанта 249 п.н. (0,025), у другій – 265 п.н. (0,040).

Найменш поліморфним у дослідних групах є локус ADL 278 - три алельні варіанти. Алельні варіанти 116 та 118 п.н. представлені в обох групах, варіант 114 п.н. виявлено лише у першій групі, а варіант 108 п.н. – лише у другій групі кросу. В першій групі встановлено найвищу частоту алельного варіанта 116 п.н. (0,675), у другій – варіанта 118 п.н. (0,643).

У дослідних групах виявлено по чотири варіантних алеля локуса MCW 248 – 211, 213, 215, 217 п.н у першій групі та 213, 215, 217, 219 п.н – у другій групі птиці. З найбільшою частотою у першій групі представлено алельний варіант 213 п.н. (0,750), а у другій групі – з високою частотою - алельні варіанти 213 і 215 п.н. (0,310 в кожному випадку). У першій групі з найменшою частотою представлено алельний варіант 215 п.н. (0,025), у другій – 217 та 219 п.н. (0,190).

Таким чином, досліджувані популяції кросу є близькими за генетичною структурою, але певною мірою за алелями локусів та їх частотами відрізняються між собою, що є основою для їх подальшої характеристики та ідентифікації.

Розрахунок параметрів гетерозиготності показав (табл. 2), що досліджувані популяції курей загалом мають тенденцію до гомозиготизації – встановлена гетерозиготність є меншою за очікувану.

Популяція курей, яких утримують у ВАТ „Птахофабрика „Україна” є гетерозиготною, за локусом ADL268, а за іншими локусами має тенденцію до гомозиготизації, за локусом MCW248 знаходиться в стані близькому до генетичної рівноваги за Харді-Вайнбергом.

2. Гетерозиготність (Hexp та Hobs), індекс поліморфізму (PIC) та вірогідність виключення випадкового збігу алелей (PE) мікросателітних маркерів курей кросу „Хайсекс білий”

Маркер	Показник				
	Кількість алелей	Hobs	Hexp	PIC	PE
Перша група (n=20)					
ADL268	5	1,000	0,718	0,644	1,000
MCW216	4	0,300	0,572	0,482	0,064
LEI094	6	0,600	0,640	0,578	0,291
ADL278	3	0,400	0,504	0,441	0,114
MCW248	4	0,400	0,422	0,381	0,114
Середнє	4,4	0,540	0,571	0,505	0,317
Друга група (n=20)					
ADL268	4	0,762	0,753	0,696	0,530
MCW216	3	0,143	0,361	0,315	0,016
LEI094	7	0,667	0,792	0,745	0,379
ADL278	3	0,667	0,528	0,456	0,379
MCW248	4	0,762	0,754	0,687	0,530
Середнє	4,2	0,600	0,638	0,580	0,367

Популяція курей кросу „Хайсекс білий”, яку утримують у НД ППЗ ім. Фрунзе, має тенденцію до гомозиготизації і за локусами MCW 216 та LEI 094.

За локусами ADL 268 та MCW 248 знаходиться в стані близькому до рівноваги, і лише за локусом ADL 278 прагне до гетерозиготизації (визначена гетерозиготність вища за очікувану).

Розраховані індекси поліморфізму (PIC) свідчать про те, що досліджувані популяції птиці характеризуються середнім рівнем поліморфізму (0,505 та 0,580 відповідно для першої та другої груп).

Для курей кросу „Хайсекс білий”, яких утримують у ВАТ „Птахофабрика „Україна”, вірогідність виключення випадкового збігу алелей (PE) для ADL268 становила 1,000, що свідчить про надзвичайно високу інформативність маркера. Щодо інших маркерів – цей показник (PE) значно нижчий.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено відмінності генетичної структури двох популяцій курей промислових стад кросу „Хайсекс білий” за частотами та кількістю алелей, які визначені маркерами ADL0268, MCW216, LEI0094, ADL0278, MCW248.

2. Підтверджено необхідність проведення генетичного контролю при завезенні птиці в країну і роботі з нею в господарствах-репродукторах.

3. Одержані результати свідчать про досить високий рівень інформативності обраної системи молекулярно-генетичних маркерів ДНК.

4. Використання запропонованої панелі мікросателітних маркерів для генотипування курей яєчних кросів надає додаткові можливості для проведення подальшої комплексної оцінки кросів, які використовуються в нашій країні.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Генетико-селекційний моніторинг у м'ясному скотарстві / [Зубець М.В., Буркат В.П., Мельник Ю.Ф. та ін.]; за ред. М.В.Зубця. – К.: Аграрна наука, 2000. – 187 с.

2. Генотипування курей кросу „Ломанн білий” / А.В.Шельов, В.Г.Спиридонов, С.Д.Мельничук та ін. // Біологія тварин. – 2009. – Т. 11, № 1/2. – С. 277–281.

3. Генетична ідентифікація і паспортизація порід і ліній птиці. Методичні рекомендації / О.П.Подстрешний, О.В.Терещенко, Т.Е.Ткачик та ін. – Бірки, 2009. – 76 с.

4. Молекулярно-генетичний аналіз популяцій курей кросу „Ломанн коричневий” / [В.Г.Спиридонов, А.В.Шельов, С.Д.Мельничук та ін.] // Сучасне птахівництво. – 2009. – № 9–10. – С. 16–19.

5. Подстрешний О.П. Генетична паспортизація ліній та порід курей / О.П.Подстрешний // Птахівництво. – 2008. – Вип. 61. – http://www.nbu.gov.ua/portal/Chem_Biol/Ptah/2008_61/index.files/19.pdf.

6. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations / T.C. Marshall, I. Slate, L. Kruuk, I.M. Pemberton // Mol.Ecol. – 1998. – №7. – P. 639–655.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ КУР КРОССА „ХАЙСЕКС БЕЛЫЙ”

**А.В. Шелёв, В.Г. Спиридонов, Н.П. Пономаренко, В.П. Бородай,
В.В. Мельник, С.Д. Мельничук**

В результате проведенных исследований генетической структуры двух популяций кур промышленных стад кросса «Хайсекс белый» с использованием панели из шести ДНК-маркеров установлены особенности их генетической структуры по частотам и количеству аллелей, которые определены микросателлитными маркерами ADL0268, MCW216, LEI0094, ADL0278, MCW248. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности проведения генетического контроля птицы при завозе на территорию Украины.

Ключевые слова: генетическая структура, популяция, кросс, микросателлитные маркеры, локус, аллель, гетерозиготность

MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF «HISEX WHITE» CROSS HENS POPULATION

**A.V. Shelyov, V.G. Spiridonov, N.P. Ponomarenko, V.P. Boroday, V.V. Melnik,
S.D. Melnichuk**

The researches of genetic structure of two populations of industrial herds of the cross «Hisex white» with use panel of five DNA-markers: ADL0268, MCW216, LEI0094, ADL0278, MCW248 are carried out. The features of their genetic structure on frequencies and quantity alleles are established. The received data testify to practicability of realization of the genetic control at delivery crosses in the country.

Key words: genetic organization, population, cross, microsatellite markers, loci, allele, heterozygosity