

Генетическая структура популяций

УДК 636.52/.58:575:575.174

doi: 10.15389/agrobiology.2018.2.282rus

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОРОД КУР УКРАИНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Р.А. КУЛИБАБА, Ю.В. ЛЯШЕНКО, П.С. ЮРКО

Современная селекция птицы направлена на максимальное использование продуктивного потенциала пород и линий разных направлений использования с целью получения наибольшей прибыли от реализации продукции птицеводства. Повсеместное распространение высокопродуктивных линий и кроссов коммерческих пород кур зарубежной селекции определено несколькими факторами, к важнейшим из которых относятся высокие показатели продуктивности птицы, а также отсутствие поддержки и эффективной реализации программ сохранения генофонда отечественных пород в целом. Акцент на работе с высокопродуктивными породами и линиями птицы имеет и негативные последствия, что выражается, в частности, в уменьшении генетического разнообразия вследствие узкой специализации селекционируемых пород, а также в сокращении национальных генетических ресурсов. Изучение генетически обусловленных особенностей различных пород птицы относится к одной из приоритетных задач сохранения генофонда. В представленной работе, используя два типа молекулярно-генетических маркеров — PCR-RFLP и Indel, мы изучали генетическую дифференциацию четырех популяций кур украинской селекции в сравнительном аспекте на основе данных по полиморфизму нескольких функциональных генов, варианты которых связаны с проявлением хозяйственно полезных признаков. Для исследований была выбрана птица украинской селекции — куры яичного (борковская барвистая, линия А), мясо-яичного (плимутрок белый, линия Г-2) и яично-мясного (полтавская глинистая, линия 14, род-айленд красный, линия 38) направлений продуктивности. Генетическую дифференциацию опытных популяций кур проводили на основе анализа частот аллелей полиморфных локусов пролактина (*PRL*), гормона роста (*GH*), инсулиноподобного ростового фактора I (*IGF-I*), членов семейства трансформирующих ростовых факторов β (*TGF- β 1*, *TGF- β 2* и *TGF- β 3*), гипофизарного фактора транскрипции-1 (*PIT-1*) и *Mx* гена (*Mx*). Обобщающая оценка генетической дифференциации опытных популяций кур разных направлений продуктивности была проведена нами посредством расчета генетических дистанций по изученным полиморфным локусам (анализировали как PCR-RFLP, так и Indel маркеры). Наиболее генетически удаленными породами оказались породы борковская барвистая и род-айленд красный (24,9 % различий). В целом можно отметить наибольшие различия между породами кур яичного и комбинированного направлений продуктивности. При этом максимально выражены отличия от яично-мясных пород (23-25 % различий в аллельных вариантах локусов). Различия между мясо-яичными и яично-мясными породами кур выражены слабо. Максимальные различия наблюдаются между породами полтавская глинистая и плимутрок белый (11,2 %), минимальные — между род-айлендом красным и плимутроком белым (4,2 %). В свою очередь, величина генетической дистанции между двумя породами яично-мясного направления занимает промежуточное положение относительно вышеприведенных (7,1 % различий). Структура филогенетического дерева в целом соответствует описанным ранее закономерностям и отражает дифференциацию опытных линий кур по направлениям продуктивности птицы. Как следует из анализа дендрограммы, популяции яично-мясных кур формируют отдельный кластер. В то же время мясо-яичные и яичные куры образуют разные ветви, при этом порода яичных кур демонстрирует наибольшие генетические различия по сравнению с другими линиями.

Ключевые слова: полиморфизм, аллель, популяция, куры, генетические дистанции, направление продуктивности.

Современная селекция птицы направлена на максимальное использование потенциала пород и линий разных направлений продуктивности с целью получения наибольшей прибыли от реализации продукции птицеводства. Повсеместное распространение высокопродуктивных линий и кроссов кур коммерческих пород зарубежной селекции определено несколькими факторами, к важнейшим из которых относятся высокие показатели продуктивности птицы, а также отсутствие поддержки и эффективной реализации программ сохранения генофонда отечественных пород в целом. Бесконечная погоня за выгодой зачастую может приводить к уничтожению, в буквальном смысле этого слова, пород, на создание которых

в свое время ушли десятилетия трудов отечественных генетиков и селекционеров. Ключевым понятием современного промышленного птицеводства становится эффективность, что выражается во все больших значениях показателей продуктивности птицы (1). Однако акцент на работе с высокопродуктивными породами и линиями птицы может иметь и негативные последствия, что выражается, в частности, в уменьшении генетического разнообразия вследствие узкой специализации селекционируемых пород, а также в сокращении национальных генетических ресурсов (2, 3). Падение интереса к различным генофондным породам ставит под угрозу их существование в целом, что может привести к потере уникальных генетических особенностей, не свойственных современной промышленной птице и характеризующих именно локальные породные группы (4, 5).

В начале 1990-х годов в Институте птицеводства Украинской академии аграрных наук насчитывались десятки пород и линий сельскохозяйственной птицы разных направлений продуктивности (среди которых были редкие породы — юрловские голосистые, итальянские куропаточные, голошейные куры, мини куры и т.д.) (6). На Государственной опытной станции птицеводства (правопреемнице вышеназванного института птицеводства) сейчас содержится лишь ограниченное число пород кур украинской селекции, представленных всего несколькими линиями. К наиболее распространенным представителям этого «генофондного ядра» относятся породы кур яичного направления продуктивности — борковская барвистая (линия А), мясояичные куры — плимутрок белый (линия Г-2), яично-мясные куры — породы полтавская глинистая (линия 14) и род-айленд красный (линия 38 и линия 02). В настоящее время вышеперечисленные породы кур не имеют значения для промышленного птицеводства и реализуются лишь для нужд небольших фермерских хозяйств, что во многом определяется хорошими адаптационными способностями кур украинской селекции при содержании на подворье. Отсутствие выраженной государственной поддержки и интереса крупных производителей продукции птицеводства на Украине ставят под угрозу существование генофондных пород в целом, что в случае их исчезновения приведет к безвозвратной потере уникального генетического материала, адаптированного к условиям содержания в соответствующей географической зоне. Изучение генетически обусловленных особенностей различных пород птицы относится к приоритетным вопросам сохранения генофонда (7). Поэтому анализ особенностей генетической структуры локальных украинских популяций кур (наряду с сохранением генофонда в целом) приобретает черты первоочередных задач для птицеводства Украины.

Исследование особенностей генетико-популяционных параметров опытных линий кур проводилось нами и ранее, однако в этой публикации мы впервые делаем акцент на генетической дифференциации выбранных популяций украинской селекции в сравнительном аспекте на основе данных по полиморфизму различных функциональных генов, аллельные варианты которых связаны с проявлением хозяйственно полезных признаков.

Целью работы была молекулярно-генетическая дифференциация генофондных пород кур украинской селекции.

Методика. Исследования проводили в период с 2011 по 2015 год на опытных популяциях кур украинской селекции разных направлений продуктивности — яичных (борковская барвистая, линия А), мясояичных (плимутрок белый, линия Г-2) и яично-мясных (полтавская глинистая, линия 14; род-айленд красный, линия 38).

Изучали полиморфизм целевых генов по типам молекулярно-гене-

тических маркеров PCR-RFLP и Indel: *PIT-1* (ген гипофизарного фактора транскрипции-1) — инсерция размером 57 п.н. во 2-м интроне; *PRL* (ген пролактина) — инсерция размером 24 п.н. в промоторном участке, а также транзикация цитозина в тимин в положении –2402; *GH* (ген гормона роста) — MspI-полиморфизм в 1-м и 4-м, SacI- и AluI-полиморфизм в 4-м интроне; *IGF-I* (ген инсулиноподобного ростового фактора I) — HinfI-полиморфизм в промоторном участке и PstI-полиморфизм в 5'UTR фрагменте; *TGF-β1* (ген трансформирующего ростового фактора β1) — MboII-полиморфизм экзонного участка; *TGF-β2* (ген трансформирующего ростового фактора β2) — RsaI-полиморфизм промоторного фрагмента; *TGF-β3* (ген трансформирующего ростового фактора β3) — BslI-полиморфизм в 4-м интроне; *Mx* (ген Mx) — RsaI-полиморфизм в 13-м экзоне.

Использовались праймеры, протоколы амплификации и эндонуклеазы рестрикции, описанные в литературе (8-15).

Амплификацию выполняли с использованием реагентов DreamTaq PCR Master Mix («Thermo Scientific», США) с помощью программируемого термоциклера Терцик («ДНК-технология», Россия) по соответствующим программам: 1 цикл — денатурация при 94 °С 5 мин; 35 циклов — денатурация при 94 °С 1 мин, отжиг 1 мин при значении температуры для каждого из соответствующих локусов, элонгация при 72 °С 1 мин; 1 цикл — финальная элонгация при 72 °С 10 мин. Объем конечной смеси составил 20 мкл, концентрация праймеров — 0,2 мкМ. Генотипирование по каждому из локусов проводили на основании анализа полученных электрофореграмм.

Частоту аллелей полиморфных локусов определяли по формулам максимального правдоподобия (16). На основе полученных данных рассчитывали значения генетических дистанций по Nei, а также показатели F-статистики Райта по общепринятым методикам с использованием компьютерной программы Popgen32 (https://sites.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html). Степень дивергенции между популяциями определяли по значению коэффициента F_{st} , принимая во внимание следующие положения: значения F_{st} 0,00-0,05 — слабая дивергенция; 0,06-0,15 — средняя; 0,16-0,25 — большая; > 0,25 — очень большая дивергенция (17). Построение филогенетического дерева проводили с помощью пакетов компьютерных программ PHILIP 3.69 (<http://evolution.gs.washington.edu/philip/getmew1.html>) и MEGA 7 (https://www.megasoftware.net/download_form). Достоверность показателей частот аллелей и доверительные границы их варьирования определяли с использованием статистической ошибки и *t*-критерия (16). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Применение метода ПЦР и рестрикционного анализа дало возможность определить полиморфные варианты выбранных генов в популяциях кур украинской селекции. Структура использованных праймеров, соответствующие эндонуклеазы рестрикции, а также относительные размеры продуктов амплификации и рестрикции приведены в таблице 1.

1. Нуклеотидные последовательности праймеров, соответствующие эндонуклеазы рестрикции, использованные в работе, и относительные размеры продуктов амплификации/рестрикции

Локус	Нуклеотидные последовательности праймеров (ссылка литературы)	Отжиг	Эндонуклеаза рестрикции	Продукты амплификации/рестрикции, п.н.
<i>PIT-1</i> (2 интрон)	gtcaaggcaaatattctgtacc; tgcattgtaattggctctg (8)	58 °С		I — 387; D — 330
<i>PRL</i> (промотор)	tttaattattgggtgaagagaca; atgccactgatcctcgaaaactc (9)	54 °С		I — 154; D — 130
<i>PRL</i> (C-2402T)	agaggcagcccaggcattttac; cctggctctggttggaattg (9)	62 °С	AluI	C — 160/144/81/54; T — 304/81/54

<i>GH</i> (1-й интрон)	atccccagggaacaacatcctc; cctcgcacatccagctcacaat (10)	55 °C	MspI	A — 539/237; B — 392/237/147; C — 267/237/147/125
<i>GH</i> (4-й интрон)	ctaaaggacctggaagaaggg; aacctgtcgttagtggtgctg (10)	61 °C	MspI	A — 1200; B — 600/600; C — 500/700
<i>GH</i> (4-й интрон)	ctaaaggacctggaagaaggg; aacctgtcgttagtggtgctg (10)	61 °C	SacI	A — 584/440/144; B — 1024/144
<i>GH</i> (4-й интрон)	ctgaggagcgttggttatgggac; gacctcaaggattgcagggct (11)	63 °C	AluI	C — 167/293; T — 108/185/167
<i>IGF-I</i> (промотор)	catctgcagcagcttatctg; tcaagagaagcccttca (12)	55 °C	Hinfl	C — 622/191; A — 378/244/191
<i>IGF-I</i> (5'UTR)	gactatacagaagaaccac; tatcactcaagtggctcaagt (13)	53 °C	PstI	C ₁ — 621; C ₂ — 257/364
<i>TGF-β1</i> (экзон)	ggggctctcaagctcagcgt; ttggcaatgctctgcatgctc (14)	65 °C	MboII	B — 173/67; F — 240
<i>TGF-β2</i> (промотор)	gccataggttcagtgcaag; tgacagaagctctcaagcc (14)	52 °C	RsaI	B — 100/184; L — 284
<i>TGF-β3</i> (4-й интрон)	tcagggcaggtagaggggtg; gccactggcaggattctcac (14)	64 °C	BslI	B — 125/75/74/20; L — 145/75/74
<i>Mx</i> (13-й экзон)	ccttcagcctgttttctcctttaggaa; cagaggaatctgattgctcaggcgtgta (15)	60 °C	RsaI	A — 100; G — 73/27

В таблице 2 приведены данные по значениям частот аллелей изученных локусов в опытных линиях кур.

2. Частоты аллелей изученных локусов в опытных популяциях кур генофондных пород украинской селекции

Локус, рестриктаза	Порода кур			
	плимутрок белый	борковская барвистая	полтавская глинистая	род-айленд красный
<i>PRL</i>	0,135 (I) ^a ;	0,710 (I) ^b ;	0 (I) ^c ;	0,060 (I) ^d ;
24 Indel	0,865 (D) ^a	0,290 (D) ^b	1 (D) ^c	0,940 (D) ^d
<i>PRL</i>	0,155 (C) ^a ;	0,710 (C) ^b ;	0,372 (C) ^c ;	0,140 (C) ^{ad} ;
C-2402T	0,845 (T) ^a	0,290 (T) ^b	0,628 (T) ^c	0,860 (T) ^{ad}
<i>GH</i>	0,435 (A) ^a ;	0,650 (A) ^b ;	0,908 (A) ^c ;	0,390 (A) ^{ad} ;
1-й интрон	0,395 (B) ^a ;	0,270 (B) ^b ;	0,020 (B) ^c ;	0,130 (B) ^d ;
MspI	0,170 (C) ^a	0,080 (C) ^b	0,072 (C) ^{bc}	0,480 (C) ^d
<i>GH</i>	0,560 (A) ^a ;	0,750 (A) ^b ;	0,100 (A) ^c ;	0,270 (A) ^d ;
4-й интрон	0,160 (B) ^a ;	0,080 (B) ^b ;	0,070 (B) ^{bc} ;	0,310 (B) ^d ;
MspI	0,280 (C) ^a	0,170 (C) ^b	0,830 (C) ^c	0,420 (C) ^d
<i>GH</i>	0,030 (A) ^a ;	0,550 (A) ^b ;	0,036 (A) ^{ac} ;	0,110 (A) ^d ;
4-й интрон	0,970 (B) ^a	0,450 (B) ^b	0,964 (B) ^{ac}	0,890 (B) ^d
SacI				
<i>GH</i>	0,140 (C) ^a ;	0,080 (C) ^{ab} ;	0,040 (C) ^{bc} ;	0,300 (C) ^d ;
4-й интрон	0,860 (T) ^a	0,920 (T) ^{ab}	0,960 (T) ^{bc}	0,700 (T) ^d
AluI				
<i>IGF-I</i>	0,180 (C ₁) ^a ;	0,270 (C ₁) ^b ;	0,380 (C ₁) ^c ;	0,350 (C ₁) ^{bcd} ;
PstI	0,820 (C ₂) ^a	0,730 (C ₂) ^b	0,620 (C ₂) ^c	0,650 (C ₂) ^{bcd}
<i>IGF-I</i>	0,680 (A) ^a ;	0,270 (A) ^b ;	0,290 (A) ^{bc} ;	0,420 (A) ^d ;
Hinfl	0,320 (C) ^a	0,730 (C) ^b	0,710 (C) ^{bc}	0,580 (C) ^d
<i>TGF-β1</i>	0,210 (B) ^a ;	0,540 (B) ^b ;	0,310 (B) ^c ;	0,150 (B) ^{ad} ;
	0,790 (F) ^a	0,460 (F) ^b	0,690 (F) ^c	0,850 (F) ^{ad}
<i>TGF-β2</i>	0,460 (B) ^a ;	0,600 (B) ^b ;	0,790 (B) ^c ;	0,610 (B) ^{bd} ;
	0,540 (L) ^a	0,400 (L) ^b	0,210 (L) ^c	0,390 (L) ^{bd}
<i>TGF-β3</i>	0,240 (B) ^a ;	0,170 (B) ^{ab} ;	0,520 (B) ^c ;	0,330 (B) ^d ;
	0,760 (L) ^a	0,830 (L) ^{ab}	0,480 (L) ^c	0,670 (L) ^d
<i>Mx</i>	0,210 (A) ^a ;	0,375 (A) ^b ;	0,140 (A) ^{ac} ;	0,125 (A) ^{cd} ;
	0,790 (G) ^a	0,625 (G) ^b	0,860 (G) ^{ac}	0,875 (G) ^{cd}
<i>PIT-1</i>	0,520 (I) ^a ;	0,360 (I) ^b ;	0,630 (I) ^c ;	0,650 (I) ^{cd} ;
	0,480 (D) ^a	0,640 (D) ^b	0,370 (D) ^c	0,350 (D) ^{cd}

Примечание. Размеры продуктов амплификации/рестрикции для каждого изученного локуса (A, B, C, C₁, C₂, D, F, G, I, L, T) приведено в таблице 1; разные буквы в верхнем индексе аллелей (a, b, c, d) указывают на статистически значимые различия (p < 0,05) в пределах локуса.

По наличию инсерции в промоторе гена пролактина наблюдалось выраженное превалирование частоты аллеля I в популяции яичных кур. В то же время для кур комбинированных направлений продуктивности (как яично-мясных, так и мясояичных) было типично преобладание аллеля D, причем в случае с полтавскими курами этот локус вообще оказался мономорфным (в популяции присутствуют только особи с генотипом DD). В

случае с мутацией С-2402Т в локусе *PRL* распределение частот аллелей было несколько схоже. Так, в популяции яичных кур частоты аллелей С и Т совпадали по значению с частотами аллелей I и D. Этот интересный феномен связан с тем фактом, что для названной популяции характерно практически тотальное превалирование кур с гаплотипом IC над особями с IT и гаплотипа DT над DC. При этом в остальных популяциях подобную тенденцию не наблюдали. Мы предполагаем, что преобладание частоты встречаемости гаплотипа IC у яичных кур непосредственно отражает эффект от проводимой селекционной работы. Такое предположение подтверждается данными разных авторов о связи аллелей I и С с показателями яичной продуктивности у кур разных пород, что, в свою очередь, коррелирует с результатами наших собственных исследований (9, 18, 19). Примечательно, что по этой мутации, в отличие от вышеописанной, локус пролактина в популяции полтавских кур был полиморфным. При этом в линии 14 частота аллеля С оказалась максимальной для популяций кур комбинированного типа продуктивности. В свою очередь, по соотношению частот аллелей С и Т линии Г-2 и 38 были практически идентичны.

По MspI-полиморфизму в 1-м интроне гена гормона роста линии кур разных направлений продуктивности существенно различались. Так, для популяции кур породы род-айленд красный было характерно превалирование аллеля С (0,480), тогда как в остальных популяциях его частота невелика. Стоит отметить, что наименьшее значение частоты встречаемости аллеля С наблюдали в популяции кур породы полтавская глинистая (0,072), которая, как и род-айленд, относится к яично-мясному типу. Возможно, в этом случае межпородные различия играют большую роль, чем тип продуктивности птицы. В то же время полтавские куры характеризовались наибольшей частотой аллеля А (0,908) и наименьшей — аллеля В (0,020) по сравнению с остальными изученными. При этом в указанной популяции в гомозиготном состоянии имелся только аллель А. По результатам исследований зарубежных авторов, аллель С полностью отсутствует в коммерческих линиях яичных кур (Hy-Line), однако его частота в нативных популяциях выражено варьирует (20). По MspI-полиморфизму в 4-м интроне гена гормона роста линии кур разных направлений продуктивности также существенно различаются между собой по распределению частот аллелей. Так, у пород полтавская глинистая и борковская барвистая в популяциях не обнаружили гомозиготных по аллелю В особей, что привело к низким значениям частоты соответствующего аллеля. При этом для полтавской глинистой была характерна наибольшая частота особей с генотипом СС и, соответственно, наивысшая частота аллеля С. Наибольшую частоту аллеля А выявили у яичных кур, наименьшую — у яично-мясных (линия 14). Для линии 38 была характерна наивысшая частота аллеля В. По SacI-полиморфизму в 4-м интроне гена гормона роста яичные куры выражено отличались от остальных за счет преобладания аллеля А (0,550). В других популяциях аллель А встречался с гораздо меньшей частотой — от 0,030 до 0,110, причем только у гетерозигот. В случае с AluI-полиморфизмом в 4-м интроне гена гормона роста различия между линиями были достаточно сглажены. Исключение составляла популяция кур породы род-айленд красный с наибольшей частотой аллеля С, тогда как в остальных популяциях явно превалировал аллель Т.

По локусу инсулиноподобного ростового фактора I во всех популяциях преобладал аллель С₂, что было наиболее выражено у линии Г-2 белых плимутроков (обнаружили только одну особь, гомозиготную по аллелю С₁). Наиболее близкие значения частот аллелей имели куры яично-мясного направления продуктивности, яичные куры занимали промежуточ-

ное положение. В свою очередь, по результатам исследований зарубежных авторов, для коммерческих мясных кроссов кур характерно существенное преобладание в популяции аллеля C_1 (Cobb 500, частота C_1 — 0,84) либо достаточно близкое соотношение значений аллельных частот (Hubbard, частота C_1 — 0,42) (21). При этом в других работах показана большая яичная продуктивность особей генотипа C_2C_2 по сравнению с C_1C_1 теперь уже в популяциях нативных корейских и китайских пород (22, 23). Изучение *HinfI*-полиморфизма в промоторном участке гена инсулиноподобного ростового фактора I показало, что здесь наибольшие отличия от остальных изученных популяций имели линии мясоичных кур. В этой популяции превалировали особи, гомозиготные по аллелю А, что приводило к преобладанию соответствующего аллеля. При этом остальные опытные популяции практически не различались между собой. Полученные данные коррелируют с результатами исследований зарубежных авторов, показавших ассоциативную связь аллеля А с мясными качествами птицы (12, 24). Действительно, линия мясоичных кур обладала наиболее выраженными мясными качествами (живая масса, масса тушки и т.д.) по сравнению с другими породами. Поэтому наблюдаемое распределение частот аллелей в изучаемых популяциях кажется вполне закономерным, но необходимо продолжить изучение связи аллельных вариантов *IGF-I* с продуктивными качествами кур породы плимутрок белый, принимая во внимание потенциальную породоспецифичность молекулярно-генетических маркеров.

Для семейства генов трансформирующих ростовых факторов β наблюдали следующее. По *MboII*-полиморфизму экзонного участка *TGF- β 1* выделялась популяция яичных кур (для нее характерно превалирование аллеля В и максимальное число особей, гомозиготных по этому аллелю). У кур комбинированного типа продуктивности значительно преобладал аллель F (максимальная частота — в популяции красных род-айлендов, где не обнаружили особей, гомозиготных по аллелю В). Отметим, что при изучении продуктивных качеств кур в зависимости от аллельных вариантов *TGF- β 1* была обнаружена положительная ассоциативная связь аллеля F с показателями мясной продуктивности у породы полтавская глинистая, что, в свою очередь, позволяет объяснить наблюдаемое распределение частот аллелей (25). Что касается *RsaI*-полиморфизма промоторного фрагмента *TGF- β 2*, то особо выраженных различий между опытными линиями мы не выявили. В целом в популяциях (за исключением белых плимутроков) преобладал аллель В (максимальную частоту отмечали у линии полтавских кур, для которой также характерна наименьшая гетерозиготность). В свою очередь, соотношение частот аллелей *TGF- β 3* в популяциях мясоичных и яичных кур было практически одинаковым (достоверных различий не обнаружили) при значительном превалировании аллеля L. У линии 38 наблюдали практически 2-кратное преобладание аллеля L относительно В. Различия в значениях частот аллелей у линии 38 по сравнению с другими популяциями были достоверны. В свою очередь, популяция полтавских глинистых кур, у которых частоты аллелей В и L практически совпадали (0,520 против 0,480), достоверно отличалась от других изученных линий.

По *RsaI*-полиморфизму гена *Mx* во всех популяциях наблюдалось сходное распределение: преобладание представленности аллеля G относительно А, наиболее выраженное у яично-мясных кур и наименее выраженное — у яичных. Более того, именно в линии яичных кур мы обнаружили наибольшее число особей, гомозиготных по аллелю А. По соотношению частот аллелей *PIT-1* сильнее всего различались популяции яичных и яично-мясных кур, а мясоичные породы занимали промежуточное положение (см. табл. 2).

Для обобщающей оценки генетической дифференциации популяций кур разного направления продуктивности мы рассчитали генетические дистанции по изученным полиморфным локусам (анализировали как PCR-RFLP, так и Indel маркеры). Полученные значения, а также противоположные им показатели генетического сходства приведены в таблице 3.

3. Генетические дистанции и генетическое сходство между опытными популяциями кур генофондных пород украинской селекции

Порода	Плимутрок белый	Борковская барвистая	Полтавская глинистая	Род-айленд красный
Плимутрок белый		0,1951	0,1124	0,0424
Борковская барвистая	0,8228		0,2319	0,2488
Полтавская глинистая	0,8937	0,7930		0,0712
Род-айленд красный	0,9585	0,7797	0,9313	

Примечание. Над диагональю — генетические дистанции, под диагональю — генетическое сходство.

Наиболее генетически удаленными породами оказались борковская барвистая и род-айленд красный (24,9 % различий). В целом наименьшее сходство проявили породы яичного и комбинированного типов, причем наименьшее сходство отмечали для яично-мясных кур (23-25 % различий в аллельных вариантах локусов) (см. табл. 3). Мясояичные и яично-мясные куры различались слабо, породы полтавская глинистая и плимутрок белый — максимально (11,2 %), род-айленд красный и плимутрок белый — минимально (4,2 %). В свою очередь, величина генетической дистанции между двумя породами яично-мясного типа занимала промежуточное положение относительно вышеприведенных значений (7,1 % различий).

Анализируя генетическую дифференциацию популяций кур, можно отметить характерное распределение частот аллелей изученных полиморфных локусов в зависимости от типа продуктивности, при этом по разным маркерам степень различий неодинакова. В связи с этим целесообразно оценить выраженность различий между популяциями по отдельным локусам. В дополнение к расчету генетических дистанций по Nei хорошим инструментом может служить коэффициент F_{st} , который непосредственно отражает подразделенность популяций и может быть вычислен для индивидуальных локусов. Значения F_{st} по каждому из локусов в пределах всех опытных популяций можно использовать для определения степени выраженности различий (генетической подразделенности) опытных линий кур по выбранным генам.

Так, по локусу пролактина по обоим изученным мутациям различия между птицей яичного и комбинированных направлений продуктивности были ярко выражены, что подтверждалось значениями F_{st} , которые составили соответственно от 0,34 до 0,55 для 24 Indel и от 0,11 до 0,33 для C-2402T. По наличию инсерции в локусе пролактина максимальные различия выявили с линией 14, что определяется мономорфным характером этого локуса в изученной популяции. В свою очередь, отклонения значения F_{st} для линий комбинированного типа продуктивности были несущественны. Значения генетической подразделенности по Wright (F_{st}) коррелировали с величиной генетических дистанций по Nei (D_n), рассчитанных отдельно для локуса пролактина: значения D_n для популяций кур яичного и комбинированного направлений продуктивности составили от 0,66 до 0,97 для 24 Indel и от 0,22 до 0,65 для C-2402T.

По локусу гормона роста ситуация непосредственно определялась типом мутации. По полиморфным вариантам в 1-м интроне (MspI-полиморфизм) особняком стояла популяция полтавских глинистых кур, которая выраженно отличалась от мясояичных (F_{st} 0,19) и яично-мясных (0,23), но не от яичных (0,09). Остальные линии различались незначитель-

но. По *AluI*-полиморфизму в 4-м интроне от общей массы несколько отличалась лишь порода род-айленд красный: значения F_{st} колебались от 0,04 до 0,12 (между другими популяциями — в пределах 0,03-0,08). В случае с *SacI*-полиморфизмом в 4-м интроне *GH* (по сравнению с остальными мутациями в этом локусе) различия между породами яичного и комбинированных направлений продуктивности оказались выражены наиболее резко (F_{st} — от 0,23 до 0,33). Для пород комбинированного типа были характерны практически минимальные значения F_{st} — 0,02-0,08. По *MspI*-полиморфизму в 4-м интроне *GH* наибольшее сходство проявилось между белыми плимутроками и борковскими барвистыми курами (0,03), а также красными род-айлендами (F_{st} 0,05), при этом две последние породы, в свою очередь, несколько различались между собой (F_{st} 0,14). Наибольшие различия наблюдали между полтавской глинистой и яичными курами (F_{st} 0,39), а также белыми плимутроками (F_{st} 0,23). Отмеченные закономерности полностью соответствуют значениям генетических дистанций по *Nei*.

По полиморфизму генов семейства трансформирующих ростовых факторов β наблюдали следующее. В случае с *MboII*-полиморфизмом экзонного участка *TGF-β1* выделилась популяция яичных кур, которая имела минимальные различия с линией 14 (F_{st} 0,11) и максимальные — с линией 38 (F_{st} 0,24); в сравнении с мясояичными курами $F_{st} = 0,18$. Между популяциями кур комбинированного типа различия не были выражены. Для *RsaI*-полиморфизма промоторного фрагмента *TGF-β2* особо выраженных различий между линиями не обнаружили. Наибольшее значение индекса F_{st} получили при сравнении популяций плимутроков белых и полтавских глинистых кур. Для всех популяций значения F_{st} по локусу *TGF-β3*, как и в предыдущем случае, не отражали значительных различий.

По *PstI*-полиморфизму в локусе инсулиноподобного ростового фактора *I* значимых различий по показателю F_{st} между всеми популяциями мы не обнаружили. По *HinfI*-полиморфизму в промоторном участке гена инсулиноподобного ростового фактора *I* наибольшие отличия от всех остальных изученных популяций проявились у линии мясояичных кур (за исключением сравнения с красными род-айлендами). Для всех остальных линий различия были несущественными.

По локусу *PIT-1* значимых различий F_{st} тоже не обнаружили. По *RsaI*-полиморфизму гена *Mx* все популяции были сходны (значение F_{st} колебались от 0,01 до 0,08).

В целом особенности распределения частот аллелей в популяциях кур могут определяться как направлением отбора (в сторону яичной или мясной продуктивности и т.д.), так и породными различиями. Более того, проводимая селекционная работа, основанная на оценке по фенотипу, дает возможность выбирать особей для формирования гнезд зачатую на основе ряда факторов, каждый из которых связан с работой нескольких генов (аллелей). Количественные признаки определяются совокупной активностью значительного числа генов, поэтому отбираемые особи с желательными показателями продуктивности могут нести и непродуктивные аллели в составе комплексных генотипов, что особенно проявляется в случае гетерозигот. Совместно все эти факторы и приводят к подобному распределению.

На основании генетических дистанций по совокупности изученных локусов методом Neighbor Joining была построена дендрограмма генетических взаимоотношений между опытными популяциями кур (рис.). Структура филогенетического дерева в целом соответствует описанным ранее закономерностям и отражает различия между линиями кур в зависимости от типа продуктивности. На дендрограмме популяции яично-мясных кур

объединяются в один кластер. В то же время мясояичные и яичные куры образуют отдельные ветви, при этом порода яичных кур демонстрирует наибольшие генетические различия по сравнению с другими линиями.



Дендрограмма межпопуляционных взаимоотношений, построенная на основании анализа генетических дистанций по Nei методом Neighbor Joining: Population1 — плимутрок белый, линия Г-2; Population2 — борковская барвистая, линия А; Population3 — полтавская глинистая, линия 14; Population4 — род-айленд красный, линия 38.

Полученные данные подтверждают тот факт, что классические методы селекции, основанные на фенотипе, зачастую не позволяют отбирать желательные генотипы и элиминировать особей с непродуктивными аллелями по целому ряду локусов. Как показывает опыт использования традиционных методов селекционно-племенной работы, отечественные породы кур все же уступают импортным линиям по показателям продуктивности, что во многом вызвано недостаточным внедрением методов маркер-опосредованной селекции (MAS) в практику украинского птицеводства. MAS уже становится вполне рутинным инструментом, позволяющим достичь значений продуктивности птицы, демонстрируемых зарубежными линиями, которые, согласно результатам исследований зарубежных авторов, мономорфны по ряду генов-кандидатов.

Таким образом, полученные нами данные убедительно показывают, что генетическая дифференциация опытных популяций кур по совокупности изученных полиморфных локусов определяется в первую очередь типом продуктивности птицы, хотя степень влияния этого фактора может различаться. Наличие выраженной генетической изменчивости в каждой из изученных пород позволяет вовлекать их в направленную селекционную работу с использованием молекулярно-генетических методов (типирование особей по ряду локусов количественных признаков), чтобы получить экспериментальные линии с определенным набором желательных генотипов и их сочетаний. Это позволит максимально раскрыть продуктивный потенциал пород кур украинской селекции.

Інститут тваринництва Національної академії аграрних наук України,
62404 Україна, Харківський р-н, Харківська обл., п/в Куличинці,
e-mail: romankx@rambler.ru, yurij2303@gmail.com, yurkopolina@yandex.ru ✉

Поступила в редакцію
4 сентября 2017 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 2, pp. 282-292

GENETIC DIFFERENTIATION OF UKRANIAN CHICKEN BREEDS USING VARIOUS TYPES OF MOLECULAR GENETIC MARKERS

R.A. Kulibaba, Yu.V. Liashenko, P.S. Yurko

Institute of Animal Science of National academy of agrarian sciences of Ukraine, Kharkiv Region, Kharkiv District, p.d. Kulynychi, 62404 Ukraine, e-mail romankx@rambler.ru, yurij2303@gmail.com, yurkopolina@yandex.ru (✉) corresponding author)

ORCID:

Kulibaba R.A. orcid.org/0000-0003-1776-7147

Yurko P.S. orcid.org/0000-0003-4870-1570

Liashenko Yu.V. orcid.org/0000-0003-2747-476X

The authors declare no conflict of interests

Received September 4, 2017

doi: 10.15389/agrobiol.2018.2.282eng

Abstract

Modern poultry breeding is aimed towards maximizing productive performance and genetic

potential of chicken breeds and lines used for different purposes in order to obtain the greatest profit. Prevalence of foreign highly productive commercial chicken lines and crosses is determined by several factors, the most important of which are the high productivity of chicken lines, as well as the lack of support and ineffective implementation of programs targeted to genetic conservation of native breeds. Preferences given to highly productive chicken breeds in breeding and poultry farming also have negative effects which manifest in a reduced genetic diversity due to narrow specialization of selected breeds and lead to the reduction of national genetic resources. The study of genetically determined features of different chicken breeds is one of the priority tasks of the gene pool conservation problem. In this study, we used two types of molecular genetic markers, PCR-RFLP and Indel, to investigate the genetic differentiation of Ukrainian chicken breeds in comparative aspect based on polymorphism of different functional genes whose allelic variants are associated with productive traits. The Ukrainian chicken breeds for different primary use, i.e. Borkovskaya Barvistaya line A, Plymouth Rock White line G-2, Poltava clay line 14 and Rhode Island Red line 38, were compared. Genetic differentiation of the chicken populations was performed by analyzing frequencies of alleles in polymorphic loci of prolactin gene (*PRL*), growth hormone gene (*GH*), insulin-like growth factor I gene (*IGF-I*), gene family of transforming growth factors β (*TGF- β 1*, *TGF- β 2* and *TGF- β 3*), pituitary transcription factor-1 gene (*PIT-1*) and *Mx* gene (*Mx*). For generalized estimation of breed diversity, the genetic distances were calculated based on the studied polymorphic loci for both PCR-RFLP and Indel markers. The most genetically distant breeds were Borkovskaya Barvistaya and Rhode Island Red (24.9 % of the differences). In general, the largest differences can be noted between the egg-lying and dual-purpose chicken breeds. In this, the allelic differences with the lines used for both eggs and meat were most pronounced (23-25 %). Differences between the breeds of dual use, i.e. primary for meat and eggs or for eggs and meat, were not expressed enough. Maximum differences were between populations of Poltava clay and Plymouth Rock White chicken (11.2 %), while minimum differences were between Rhode Island Red and White Plymouth Rock chicken (4.2 %). In turn, the genetic distance between the two egg-meat breeds studied was intermediate compared to the above-mentioned (7.1 % difference). The pattern of phylogenetic tree corresponds to the previously described regularities and reflects differentiation of the chicken lines by their primary use. As follows from the dendrogram, the chickens of egg-meat primary use form a separate cluster. At the same time, meat-egg and egg-lying chickens form separate branches, while the egg-lying breed shows the greatest genetic differences compared to the other lines.

Keywords: polymorphism, allele, population, chicken, genetic distances, egg chicken breeds, dual-purpose chicken breeds.

REFERENCES

1. Fisinin V.I., Cherepanov S.V. *Materialy XVII Mezhdunarodnoi konferentsii «Innovatsionnye razrabotki i ikh osvoenie v promyshlennom pitsevodstve»* [Proc. XVII Int. Conf. WSAP «Innovative developments in poultry use and their practical use»]. Sergiev Posad, 2012: 3-7 (in Russ.).
2. Stolpovskii Yu.A. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii*, 2013, 17(4/2): 900-915 (in Russ.).
3. Semik E., Krawczyk J. The state of poultry genetic resources and genetic diversity of hen populations. *Ann. Anim. Sci.*, 2011, 11(2): 181-191.
4. Paronyan I.A. *Genetika i razvedenie zhivotnykh*, 2014, 3: 43-48 (in Russ.).
5. Roiter Ya.S. *Ptitsa i pitseprodukty*, 2016, 3: 45-47 (in Russ.).
6. *Katalog plemnnykh resursiv sil'skogospodars'koi ptitsi* /Pod redaktsiei Yu.O. Ryabokonya [Catalogue of poultry breed gene pool. Yu.O. Ryabokon' (ed.)]. Kiiv, 2006 (in Russ.).
7. Gal'pern I.L., Segal E.L., Fedorov I.V. *Materialy XVIII Mezhdunarodnoi konferentsii V NAP «Innovatsionnoe obespechenie yaichnogo i myasnogo pitsevodstva Rossii»* [Proc. XVIII Int. Conf. WSAP «Innovative provision of egg and meat poultry in Russia»]. Sergiev Posad, 2015: 45-48 (in Russ.).
8. Nie Q., Fang M., Xie L., Zhou M., Liang Z., Luo Z., Wang G., Bi W., Liang C., Zhang W., Zhang X. The PIT1 gene polymorphisms were associated with chicken growth traits. *BMC Genet.*, 2008, 9: 20-24 (doi: 10.1186/1471-2156-9-20).
9. Cui J.-X., Du H.-L., Liang Y., Deng X.-M., Li N., Zhang X.-Q. Association of polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production. *Poultry Sci.*, 2006, 85: 26-31 (doi: 10.1093/ps/85.1.26).
10. Feng X.P., Kuhnlein U., Aggrey S.E., Gavora J.S., Zadworny D. Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor gene in a White Leghorn strain. *Poultry Sci.*, 1997, 76: 1770-1775 (doi: 10.1093/ps/76.12.1770).
11. Kulibaba R.A., Liashenko Y.V., Yurko P.S. Novel AluI-polymorphism in the fourth intron of chicken growth hormone gene. *Cytol. Genet.*, 2017, 51(1): 54-59 (doi: 10.3103/S0095452717010091).
12. Zhou H., Mitchell A.D., McMurtry J.P., Ashwell C.M., Lamont S.J. Insulin-like growth factor-I gene polymorphism associations with growth, body composition, skeleton integrity, and metabolic traits in chickens. *Poultry Sci.*, 2005, 84: 212-219 (doi: 10.1093/ps/84.2.212).
13. Nagaraja S.C., Aggrey S.E., Yao J., Zadworny D., Fairfull R.W., Kuhnlein U. Trait association

- of a genetic marker near the IGF-I gene in egg-laying chickens. *J. Hered.*, 2000, 91: 150-156.
14. Li H., Deeb N., Zhou H., Mitchell A.D., Ashwell C.M., Lamont S.J. Chicken quantitative trait loci for growth and body composition associated with transforming growth factor- β genes. *Poultry Sci.*, 2003, 82: 347-356 (doi: 10.1093/ps/82.3.347).
 15. Luan D.Q., Chang G.B., Sheng Z.W., Liu Y., Chen G.H. Analysis on the polymorphism and the genetic effects on some economic traits of mx gene S631N mutation site in chicken. *Thai J. Vet. Med.*, 2010, 40(3): 303-310.
 16. Merkur'eva E.K. *Geneticheskie osnovy seleksii v skotovodstve* [Genetic basis of breeding in animal husbandry]. Moscow, 1977 (in Russ.).
 17. Wright S. *Evolution and the genetics of populations. V. 4: Variability within and among natural populations*. Chicago, 1978.
 18. Jiang R.-S., Xu G.-Y., Zhang X.-Q., Yang N. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. *Poultry Sci.*, 2005, 84: 839-845 (doi: 10.1093/ps/84.6.839).
 19. Bagheri Sarvestani A.S., Niazi A., Zamiri M.J., Dadpasand Taromsari M. Polymorphisms of prolactin gene in a native chicken population and its association with egg production. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 2013, 14(2): 113-119.
 20. Ip S.C.Y., Zhang X., Leung F.C. Genomic growth hormone gene polymorphisms in native Chinese chickens. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 2001, 226(5): 458-462.
 21. Al-Hassani A.S., Al-Hassani D.H., Abdul-Hassan I.A. Association of insulin-like growth factor-1 gene polymorphism at 279 position of the 5'UTR region with body weight traits in broiler chicken. *Asian Journal of Poultry Science*, 2015, 9(4): 213-222 (doi: 10.3923/ajpsaj.2015.213.222).
 22. Kim M.H., Seo D.S., Ko Y. Relationship between egg productivity and insulin-like growth factor-I genotypes in Korean native Ogol chickens. *Poultry Sci.*, 2004, 83: 1203-1208 (doi: 10.1093/ps/83.7.1203).
 23. Li H.F., Zhu W.Q., Chen K.W. Polymorphism in NPY and IGF-I genes associates with reproductive traits in Wenchang chicken. *African Journal of Biotechnology*, 2009, 8(19): 4744-4748.
 24. Moe H.H., Shimogiri T., Kawabe K., Nishibori M., Okamoto S., Hashiguchi T., Maeda Y. Genotypic frequency in Asian native chicken populations and gene expression using insulin-like growth factor I (IGFI) gene promoter polymorphism. *Japan Poultry Science*, 2009, 46: 1-5 (doi: 10.2141/jpsa.46.1).
 25. Kulibaba R.A., Tereshchenko A.V. Transforming growth factor β 1, pituitary-specific transcriptional factor 1 and insulin-like growth factor I gene polymorphisms in the population of the Poltava clay chicken breed: association with productive traits. *Agricultural Science and Practice*, 2015, 2(1): 67-72.