

УДК 636.52/.58.083:575

*П.И. КУТНЮК, научный сотрудник,
В.П. БОРОДАЙ, доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины*

Эффективность использования кариометрического метода определения генетического потенциала яйценоскости у кур

Проведена адаптація цитометричного методу каріотипування великої рогатої худоби до практичної селекції у птахівництві з метою визначення генетичного потенціалу курей за несучістю на прикладі лінії А-2 диаутосексного леггорна.

Кури з високим рівнем яєчної продуктивності за площею еритроцитарних ядер на 15,6 % перевищували даний показник у курей з низьким рівнем несучості.

Каріометричний метод визначення генетичного потенціалу сільськогосподарської птиці можна розглядати як один із додаткових методів добору при створенні нових високопродуктивних ліній і кросів яєчних курей.

Кури, еритроцитарні ядра, скринінг, сканування, вимірювання площі, генетичний потенціал, прогнозування несучості

На нынешнем этапе развития птицеводства в мире происходит объединение ряда селекционных компаний, что приводит к монополизации рынка племенных ресурсов с.-х. птицы. При этом значительно увеличились затраты ведущих селекционных фирм на внедрение, так называемой "геномной" селекции [12].

Традиционные методы селекции в птицеводстве, в основном, базируются на физиолого-морфологических показателях продуктивности кур, в частности, таких как живая масса, яйценоскость, скороспелость, выводимость и др. Однако колебания значений этих показателей в границах нормы реакции, которая определяется условиями содержания и кормления сельскохозяйственной птицы, не дает возможности в полной мере определить ее генетический потенциал.

Увеличение производства продукции птицеводства прежде всего обусловлено усовершенствованием организации селекционно-племенной работы и технологического процесса для повы-

шения племенных и продуктивных качеств птицы. Достижение высокого уровня продуктивности кур современных специализированных яичных кроссов требует разработки новых, более совершенных приемов повышения эффективности селекционной работы с птицей.

В последнее время исследуют генетическую структуру и продуктивность кур яичных кроссов [5], проводят молекулярно-генетический анализ популяций кур разных кроссов [10,13] и т.д.

Одним из методов определения наследственного потенциала сельскохозяйственной птицы может быть компьютерное карiotипирование ее генома [9,14]. Функциональная характеристика карiotипа кур и особенности его организации не зависят от условий содержания и кормления птицы. Карiotип курицы отображает наиболее существенные черты генетического состава особи. Это связано с тем, что хромосомный набор у кур представлен двумя типами хромосом с различными генетическими функ-

циями – это 6 пар больших хромосом (макрохромосомы) и 66 отдельных малых хромосом (микрохромосомы) [1,3].

Макрохромосомы птиц несут менделирующие гены, которые детерминируют важные видовые признаки. Утрата макрохромосомы или ее части обычно приводит к гибели эмбриона. Микрохромосомы же не содержат менделирующих генов, их количество в карiotипе птиц характеризуется большой нестабильностью. Утрата значительного количества микрохромосом у птиц не сопровождается заметными фенотипическими изменениями. Микрохромосомы состоят из особого типа хроматина – гетерохроматина, основная функция которого связана с регуляцией действия структурных генов. Поэтому изменение количества микрохромосом может сопровождаться изменением уровня функциональной активности целых генетических систем, в том числе, связанных с показателями продуктивности и адаптивной способности птицы [11].

Поскольку основным компо-

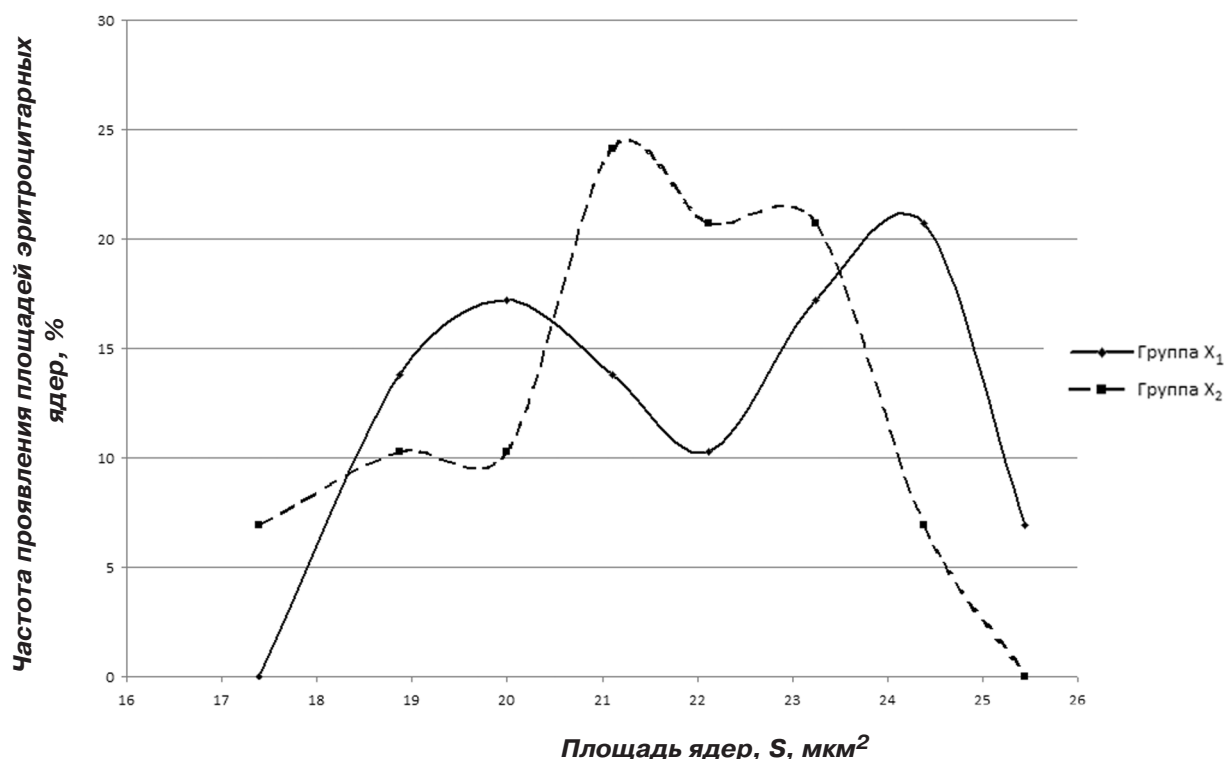


Рис. Проявление бимодальности в распределении частот и площадей эритроцитарных ядер у кур

нентом микрохромосом у птиц является гетерохроматин, выполняющий регуляторную функцию в геноме, то количество микрохромосом влияет на степень экспрессии генетического аппарата особи [15]. Это обстоятельство открывает большие возможности в деле прогрессивной селекции сельскохозяйственной птицы.

Существование индивидуального и межлинейного полиморфизма по цитометрическим параметрам клеточного ядра у кур было открыто в 70-е годы XX столетия [6]. Позже, в опытах М.А.Монаховой с соавторами [4] методом спектрофотометрии оценивали количество ДНК в ядрах пульпы пера, а также оптическую плотность и количество конденсированного хроматина в клеточных ядрах. По всем изученным параметрам были получены достоверные межлинейные различия, и, тем самым, была показана их генетическая обусловленность. В связи с этим, перспективными могут быть исследования взаимосвязи цитогенетического полиморфизма с показателями про-

дуктивности сельскохозяйственной птицы.

Цель работы – установить возможность применения методов кариометрии эритроцитарных ядер для селекции кур, направленной на повышение их яичной продуктивности.

Материал и методика исследований. Исследования были проведены на яйценоских курах гибридного происхождения, принадлежавших к материнской линии А-2 диаутосексного леггорна. При этом индивидуально оценивали яйценоскость более 1000 кур за 470 дней жизни. Исходя из полученных данных о яйценоскости были сформированы две группы кур (по 29 голов каждая) с высокой ($X_1 \geq M + 1,5 \sigma$) и низкой ($X_2 \leq M - 1,5 \sigma$) продуктивностью. При этом, от кур группы X_1 (с высоким уровнем яйценоскости) за 68 недель жизни получено 290 яиц, а от кур группы X_2 (с низким уровнем яйценоскости) – 230 яиц. У подопытных птиц изучали среднюю площадь ядер эритроцитов методом компьютерного сканирования.

Цитометрический анализ был

проведен на основе визуализации ядер эритроцитов с использованием компьютерной сканирующей установке “Jenaval” УБ-245 в модификации ХБТЦ – Харьковского биотехнологического центра. Разработанный О.В.Медведовским [3] компьютерный метод цитометрии ранее использовался для сканирования кариотипа (хромосомного состава) крупного рогатого скота. Совершенствование цитометрического метода анализа площадей эритроцитарных ядер у кур нами было направлено на получение отображения ядер на мониторе компьютера.

Опытная установка УБ-245 состояла из оптического микроскопа с миниатюрной видеокамерой-насадкой вместо окуляра. Использованный нами метод компьютерной цитометрии, который ранее применялся для сканирования кариотипа крупного рогатого скота, удовлетворял всем требованиям, предъявляемым к современным компьютерным технологиям в области сельского хозяйства.

Получение образцов крови кур в количестве 15 мкл от каждой

Статистические показатели распределения площадей эритроцитарных ядер у кур гибридного происхождения с различным уровнем яйценоскости

Площадь ядер, S, мкм ²	Частота проявления площадей эритроцитарных ядер у кур, %	
	группа кур X ₁ , n=29	группа кур X ₂ , n=29
до 17,39	–	6,9
18,81-18,92	13,8	10,3
19,93-20,05	Mod ₁ → 17,2	10,3
21,05-21,17	13,8	Mod ₁ → 24,1
22,07-22,18	10,3	20,7
23,20-23,31	17,2	20,7
24,32-24,43	Mod ₂ → 20,7	6,9
25,34-25,56	6,9	–

особи осуществляли путем прокола гребня с последующим нанесением капли крови на поверхность сухого, обезжиренного и промаркированного предметного стекла. После распределения образцов крови на поверхности стекол, препараты высушивали и фиксировали в 96% этаноле, а затем окрашивали по Романовскому-Гимза для последующего цитометрического сканирования на опытной установке УБ-245.

Во время сканирования препаратов крови кур основное внимание уделялось морфометрии клеточных ядер, площадь которых исчислялась в мкм².

Результаты исследований и их обсуждение. Цитогенетический полиморфизм – это новый пласт генетической изменчивости, которая до настоящего времени не использовалась в селекционном процессе при выведении новых пород и популяций сельскохозяйственной птицы.

При оценке цитогенетического полиморфизма эритроцитарных ядер у птиц исходят из того положения, что колебания количества микрохромосом проявляется на уровне показателя общего содержания ДНК в ядре [6,7,8]. Это может быть связано с амплификацией структурных генов, которые, в свою очередь, могут иметь селективное значение. Регуляторное же действие микрохромосом направлено на функционирование структурных генов и сопровождается накоплением ДНК как носителя наследственной информации.

У скринированных нами кур с различной яйценоскостью средняя площадь эритроцитарных ядер колебалась в границах 19,8-26,9 мкм² при продольном диаметре овального ядра 6-8 мкм. Статистическое распределение площадей эритроцитарных ядер у отдельно взятой курицы ввиду больших значений асимметрии (1,18) и эксцесса (3,47) скорее напоминало распределение Пуассона, нежели распределение Гаусса.

С целью обработки кариомет-

рического метода определения генетического потенциала в группах кур с высокой и низкой яйценоскостью было просканировано усовершенствованным нами методом цитометрии 58 (29x2) образцов крови кур линии А-2, входящей в состав коллекционного генофонда. Количество ядер, площадь которых была измерена в мкм², составила 870 (58x15), т. е. количество измеренных ядер в каждом образце равнялась 15.

Статистическое распределение площадей эритроцитарных ядер в целом по выборке в группе кур с высокой яйценоскостью ввиду отсутствия асимметрии (0,048-0,246) и большого значения эксцесса (1,8-2,49) имело характер не нормального распределения по Гауссу, а в сущности было бимодальным. Подобная бимодальность обычно присуща популяциям птицы гибридного происхождения [2].

Проявления бимодальности некоторых генетических показателей как, например, площади эритроцитарных ядер, свидетельствует о том, что кариометрический метод сканирования генетического материала у кур объективно отображает “генетическую память” гибридных популяций птицы и напоминает об их происхождении от “чистых” линий с различным уровнем яичной продуктивности и генетического потенциала [2].

Использование статистического приема “a box with whiskers – ящик с усами” показало, что

основное статистическое группирование кур с повышенной яйценоскостью на числовой оси ядерных площадей было смещено в сторону увеличенных значений показателя площади эритроцитарных ядер (табл.).

При сопоставлении значений отдельных мод распределения средней площади (S) эритроцитарных ядер в группах кур с высоким (X₁) и низким (X₂) уровнями яичной продуктивности (соответственно S Mod₂ = 24,4±0,375 мкм² и S Mod₁ = 21,1±0,328 мкм²) в сравниваемых группах по данному показателю заметны существенные и достоверные различия (P<0,001). Куры с высоким уровнем яичной продуктивности по площади эритроцитарных ядер на 15,6% превышали этот показатель у кур с низким уровнем яйценоскости (табл.).

Таким образом, проведенные исследования по кариометрическому определению наследственного потенциала у кур по яйценоскости выявили взаимосвязь уровня их яйцекладки с площадью эритроцитарных ядер.

Выводы

1. Обнаружены статистически достоверные различия у кур с высокой и низкой яичной продуктивностью на основании их цитометрических данных – площадей эритроцитарных ядер. Куры с высоким уровнем яичной продуктивности по площади эритроцитарных ядер на 15,6% превосхо-

дили этот же показатель у кур с низким уровнем яйценоскости.

2. Кариометрический метод определения генетического потенциала кур по яичной продуктивности может рассматриваться как один из вспомогательных методов, направленных на увеличение яйценоскости кур в процессе их селекции.

Осуществлена адаптация цитометрического метода кариотипирования крупного рогатого скота применительно к практической селекции в птицеводстве с целью определения наследственного потенциала кур по яйценоскости на примере линии А-2 диаутосексного леггорна.

Куры с высоким уровнем яич-

ной продуктивности по площади эритроцитарных ядер на 15,6% превышали данный показатель у кур с низким уровнем яйценоскости.

Кариометрический метод определения наследственного потенциала сельскохозяйственной птицы может рассматриваться как один из вспомогательных методов отбора при создании новых высокопродуктивных линий и кроссов яичных кур.

Куры, эритроцитарные ядра, скрининг, сканирование, измерение площади, генетический потенциал, прогнозирование яйценоскости

It was carried out the adaptation of the cytometric method concerning the karyotyping of cattle

for needs of the practical selection in the poultry-farming for determining the inherited potential of hens by the egg production after the examples of the maternal line A-2 of di-autosex Leghorn.

Hens with the high level of egg productivity by space of erythrocyte nuclei exceeded this index by 15,6% in hens with the low level of egg production.

The karyometric method of determining the inherited potential can be recommended as one of the subsidiary methods of selections when creating new high productive lines and crosses of laying hens.

Hens, nuclei of erythrocytes, screening, space measurement, genetic potential, forecasting of egg production

Литература

1. Гагинская Е.Р. Функциональная морфология хромосом в оогенезе птиц: автореф. дис. докт. биол. наук: спец. 03.00.25 "Гистология, цитология, клеточная биология" / Е.Р.Гагинская. – Л.: ИЦ, 1989. – 35 с.

2. Коваленко В.П. Феногенетичні передумові стабілізації і регулювання плодючості, реалізації гетерозисного ефекту в популяціях птиці / В.П.Коваленко, Ю.В.Бондаренко, В.С.Кромін // Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. / УНДІП. – К.: Урожай. 1979. – Вип.27. – С. 8-14.

3. Кутнюк П.І. Кариометричний метод визначення генетичного потенціалу несучості курей / П.І.Кутнюк, Ю.В.Бондаренко, Т.В.Іванова [та ін.] // Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. / ІП УААН. – Борки, 2001. – Вип.50. – С. 75-81.

4. Монахова М.А. Цитогенетический полиморфизм как резерв для совершенствования генетического потенциала отечественного кросса П46 породы белый леггорн / М.А.Монахова, Р.И.Варакина, В.И.Фисинин // Доклады VI-ой конференции Балтийских стран по птицеводству (29-30 сентября 1998 г.). – Вильнюс, 1998. Ч. II. – С. 132-133.

5. Пономаренко Н.П. Генетична структура і продуктивність курей яєчних кросів / Н.П.Пономаренко // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького. – 2007. – Т. 9, №3 (34). – Ч. 3. – С. 120-124.

6. Родионов А.В. Хиазмы на хромосомах-ламповых щетках *Gallus gallus domesticus*: цитогенетическое исследование частоты рекомбинации и длины групп сцепления / А.В.Родионов, Л.А.Челышева, И.В.Соловей [и др.] // Генетика. – 1992. – Т.28, №4. – С. 53-63.

7. Родионов А.В. Цитохимический анализ моле-

кулярной гетерогенности хромосом курицы: дис. канд. биол. наук: 03.00.25 / Родионов Александр Викентьевич. – Л.: ЛГУ, 1985. – 20 с.

8. Родионов А.В. Гетерохроматиновые районы хромосом курицы и японского перепела в митозе и на стадии ламповых щеток / А.В.Родионов, Л.А.Челышева, Е.В.Кропотова [и др.] // Цитология. – 1989. – Т.31, №8. – С. 867-873.

9. Сазанов А.А. Картирование генома курицы: проблемы и перспективы / А.А.Сазанов, Л.А.Алексеевич, А.Л.Сазанов, А.Ф.Смирнов // Генетика. – М.: Наука, 1996. – Т.33, №7. – С.869-879.

10. Спиридонов В.Г. Молекулярно-генетичний аналіз популяцій курей кросу „Ломанн коричневий” / В.Г.Спиридонов, А.В.Шельов, С.Д.Мельничук, В.П.Бородай, Н.П.Пономаренко // Сучасне птахівництво. – 2009. – №9-10. – С. 16-19.

11. Трофимов Л.В. Морфофункциональная характеристика хромосом домашних кур: автореф. дис. докт. биол. наук: спец. 03.00.25 "Гистология, цитология, клеточная биология" / Л.В.Трофимов. – Л.: ЛГУ, 1979. – 20 с.

12. Терещенко О.В. Стан і перспективи розвитку птахівництва / О.В. Терещенко // Сучасне птахівництво. – 2011. – №7-8. – С.4-8.

13. Шельов А.В. Генотипування курей кросу „Ломанн білий” / А.В.Шельов, В.Г.Спиридонов, С.Д.Мельничук, В.П.Бородай, Н.П.Пономаренко // Біологія тварин. – 2009. – Т. 11, №1/2. – С. 277-281.

14. Яковлев А.Ф. Цитогенетическая оценка племенных животных / А.Ф.Яковлев – М.: Агропромиздат, 1985. – 256 с.

15. Яковлев А.Ф. Изменение числа микрохромосом в процессе спирализации макрохромосом у *Gallus gallus domesticus* / А.Ф.Яковлев, Л.В.Трофимов // Генетика. – 1997. – Т.13, №5. – С. 806-810.