



Сторінка молодого вченого

УДК 636.52/.58:575.113/.118

© 2016

Л.В. Шуліка

*Інститут тваринництва
НААН*

** Науковий керівник —
кандидат сільсько-
господарських наук
Р.О. Кулібаба*

ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА ДВОХ ЛІНІЙ КУРЕЙ КОМБІНОВАНОГО НАПРЯМУ ПРОДУКТИВНОСТІ ЗА ЛОКУСАМИ MSTN I TLR4*

Мета. Вивчити генетичну структуру популяцій курей лінії Г2 (Плімутрок білий) та лінії 38 (Род-айленд червоний) за локусами *MSTN* та *TLR4*. **Методи.** Полімеразна ланцюгова реакція – поліморфізм довжини деструкційних фрагментів. **Результати.** Частоти алелів А і G за локусом *MSTN* становили 0,33 та 0,67 у лінії Г2; 0 та 1 у лінії 38; алелів А і В за локусом *TLR4* – 0,3 та 0,7 у лінії Г2; 0,66 та 0,34 у лінії 38. **Висновки.** Ген *TLR4* є поліморфним в обох лініях, а *MSTN* – лише в лінії Г2. За геном *MSTN* виявлено відхилення від генетичної рівноваги в лінії Г2. Дослідні популяції істотно вирізняються за генетичною структурою за обома локусами.

Ключові слова: генетична структура, кури, рестрикційний аналіз, ген міостатину (*MSTN*), ген толл-подібного рецептора 4 (*TLR4*).

Останнім часом все більше уваги приділяють вивченню функціонального поліморфізму генів-кандидатів і проведенню досліджень генетико-популяційної структури ліній та порід птиці за ДНК-маркерами з метою проведення маркер-опосередкованої селекції [1, 3, 5, 9]. До таких генів належить ген міостатину (*MSTN*) — негативного регулятора росту скелетних м'язів і ген толл-подібного рецептора 4 (*TLR4*), що бере участь в активації імунної відповіді [4, 6–8, 10]. Мутації, обрані нами для вивчення, — транзиція G2109A (HpaI-поліморфізм) у першому екзоні гена *MSTN*, для якої встановлено зв'язок із живою масою, масою грудного м'яза і абдомінального жиру, та трансверсія G3954C (Sau96I-поліморфізм) у 2-му інtronі гена *TLR4*, пов'язана з бактеріальним навантаженням на селезінку у деяких порід курей [4, 7, 10]. Для українських

популяцій курей комбінованого типу продуктивності (лінія Г2 породи Плімутрок білий — м'ясо-яєчного напрямку продуктивності, лінія 38 породи Род-айленд червоний — яєчно-м'ясного) даних щодо генетичної структури за наведеними мутаціями немає, що і визначає новизну та актуальність цієї роботи.

Мета досліджень. Вивчити генетичну структуру популяцій курей лінії Г2 породи Плімутрок білий та лінії 38 породи Род-айленд червоний за локусами *MSTN* та *TLR4*.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження були проведені в лабораторії профілактики захворювань птиці та молекулярної діагностики Державної дослідної станції птахівництва НААН. Методом випадкового відбору з ліній Г2 та 38 вибрано по 50 особин. Біологічний матеріал від курей отримували методом «крапля крові на папері». ДНК

Генетична структура дослідних ліній курей за локусами *MSTN* та *TLR4* (Віварій ДДСП НААН, 2014 р.)

Локус	Генотип	Лінія Г2				Лінія 38			
		О	Е	(О-Е) ² /Е	χ^2	О	Е	(О-Е) ² /Е	χ^2
<i>MSTN</i>	AA	10	5,5	3,727	8,320	0	–	–	–
	AG	13	22,0	3,682		0	–	–	
	GG	27	22,5	0,911		50	–	–	
<i>TLR4</i>	AA	3	4,5	0,500	1,021	22	21,8	0,002	0,016
	AB	24	21,0	0,429		22	22,4	0,007	
	BB	23	24,5	0,092		6	5,8	0,007	

Примітка. О — фактична; Е — теоретично очікувана кількість особин із зазначеними генотипами.

виділяли за допомогою набору «ДНК-сорб В» («АмпліСенс», РФ).

Генотипування особин проводили методом ПЛР-ПДРФ. Постановку ПЛР здійснювали із застосуванням набору реагентів DreamTaq PCR Master Mix («Thermo Scientific», США) за таким протоколом: 1 цикл — 94°C/5 хв; 35 циклів — 94°C/30 с, 62°C/30 с, 72°C/30 с; 1 цикл — 72°C/5 хв. Фрагмент гена *MSTN* (298 п.н.) ампліфікували з використанням праймерів 5'-aaccaatcgctgctgtttgac-3', 5'-cgttctctgtgggctgacta-3'; *TLR4* (257 п.н.) — праймерів 5'-cctggacttggacctcag-3', 5'-ggact-gaaagctgacatc-3' (кінцева концентрація — 0,2 μ M). Далі проводили рестрикцію з використанням ферментів HpaII для *MSTN* та Sau96I для *TLR4* за протоколами, рекомендованими виробником («Thermo Scientific», США). Рестрикційні фрагменти розділяли у 1,5%-му агарозному гелі, їх довжини визначали за допомогою маркера молекулярних мас М-50. Візуалізацію ДНК-фрагментів проводили з використанням бромистого етидіуму в ультрафіолетовій частині спектра.

Для аналізу генетичної структури розраховували частоти генотипів і алелів та оцінювали відповідність розподілу частот генотипів закону Гарді-Вайнберга з використанням критерію χ^2 за загальноприйнятими методиками [2].

Результати досліджень. Генотипи особин визначали за специфічними патернами рестрикції кожного з ампліфікованих фрагментів. Ген *MSTN* за HpaII-поліморфізмом характеризується наявністю двох алелів — А (сайти рестрикції для HpaII у межах ампліфікованого фрагмента відсутні) та G (1 сайт рестрикції). На електрофореграмі генотипу AA відповідає 1 фрагмент (298 п.н.), GG — 2 фрагменти (259 та 39 п.н.), AG — 3 фрагменти (298, 259 та 39 п.н.). Ампліфікований

фрагмент гена *TLR4* містить 1 поліморфний та 2 мономорфних сайти рестрикції для Sau96I, що визначає існування алелів А (без поліморфного сайту) і В (з поліморфним сайтом рестрикції). Під час аналізу електрофореграм генотип AA визначали за наявністю фрагментів завдовжки 128, 119, 10 п.н., генотип BB — 119, 89, 39, 10 п.н., AB — 128, 119, 89, 39, 10 п.н.

За локусом *MSTN* частоти генотипів у лінії Г2 породи Плімутрок білий становили: AA — 0,20; AG — 0,27; GG — 0,53, а частоти алелів А і G становили відповідно 0,33 і 0,67. У лінії 38 породи Род-айленд червоний виявлено особин лише з генотипом GG, що свідчить про мономорфність цього локусу. Локус *TLR4* виявився поліморфним для обох ліній. У лінії Г2 частоти генотипів становили: AA — 0,06; AB — 0,48; BB — 0,46. У лінії 38 співвідношення генотипів були такими: AA — 0,44; AB — 0,44; BB — 0,12. Частота алеля А для лінії Г2 — 0,30; для лінії 38 — 0,66; алеля В — відповідно 0,70 та 0,34; тобто для популяції курей породи Плімутрок білий було характерним переважання частоти алеля В, а породи Род-айленд червоний, навпаки, алеля А.

За допомогою критерію χ^2 показано, що за геном *MSTN* у популяції курей лінії Г2 породи Плімутрок білий існує відхилення фактичного співвідношення частот генотипів від очікуваного. За геном *TLR4* обидві популяції перебувають у стані генетичної рівноваги. Визначено дані щодо фактичного та теоретичного співвідношення кількості особин різних генотипів і розрахунку χ^2 (таблиця).

Результати досліджень свідчать про істотні відмінності в генетичній структурі між дослідними популяціями за обома вивченими локусами, незважаючи на те, що обидві

лінії належать до комбінованого типу продуктивності. Отримані дані щодо генетичної структури дають змогу вважати доцільною

подальшу роботу в розрізі маркер-опосередкованої селекції за обома вивченими генами з лінією Г2 та за геном *TLR4* з лінією 38.

Висновки

З'ясовано, що ген *TLR4* є поліморфним в обох лініях, тоді як *MSTN* — лише в лінії Г2. За геном *TLR4* дослідні популяції перебувають у стані генетичної рівноваги, тоді

як за геном *MSTN* у лінії Г2 спостерігається відхилення від генетичної рівноваги. Дослідні популяції істотно вирізняються за генетичною структурою за локусами *MSTN* і *TLR4*.

Бібліографія

1. Кулибаба Р.А. Полиморфизм генов гормона роста, рецептора гормона роста, пролактина и рецептора пролактина в связи с яичной продуктивностью у кур породы полтавская глинистая/ Р.А. Кулибаба//Сельскохозяйственная биология. — 2015. — Т. 50, № 2. — С. 198–207.
2. Меркурьева Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве/Е.К. Меркурьева. — М.: Колос, 1977. — 240 с.
3. Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции/Е.К. Хлесткина// Вавиловский журн. генетики и селекции. — 2013. — Т. 17, № 4/2. — С. 1044–1054.
4. Associations of myostatin gene polymorphisms with performance and mortality traits in broiler chickens/X. Ye, S.R. Brown, K. Nones [et al.]/Genet. Sel. Evol. — 2007. — V. 39. — P. 73–89.
5. Fulton J.E. Molecular genetics in a modern poultry breeding organization/J.E. Fulton//World's Poultry Science J. — 2008. — V. 64. — P. 171–176.
6. Genetic differ in *TLR4* gene polymorphisms and expression involved in Salmonella natural and artificial infection respectively in Chinese native chicken breeds/H.F. Li, Y. Hu, H. Hu [et al.]/Mol. Biol. Rep. — 2013. — V. 40. — P. 5005–5012.
7. Malek M. Analysis of chicken *TLR4*, *CD28*, *MIF*, *MD-2*, and *LITAF* genes in a Salmonella enteritidis resource population/M. Malek, J.R. Hasenstein, S.J. Lamont//Poultry Science. — 2004. — V. 83. — P. 544–549.
8. Polymorphisms of the myostatin gene and its relationship with reproduction traits in the Bian chicken/G. Zhang, L. Zhang, Y. Wei [et al.]/Animal Biotechnology. — 2012. — V. 23. — P. 184–193.
9. Williams J.L. The use of marker-assisted selection in animal breeding and biotechnology/J.L. Williams//Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. — 2005. — V. 24, № 1. — P. 379–391.
10. Zhu Z. SNPs of myostatin gene and its genetic effects on carcass traits in chicken/Z. Zhu, D.-J. Wu, N.Y. Xu//Hereditas (Beijing). — 2007. — V. 29, № 5. — P. 593–598.

Надійшла 13.11.2015.