



# Генетика, селекція, біотехнологія

УДК 636.52/.58:575.113/.118

© 2018

## АНАЛІЗ РОЗПОДІЛУ ГАПЛОТИПІВ У ЛОКУСАХ ПРОЛАКТИНУ ТА ІНСУЛІНОПОДІБНОГО РОСТОВОГО ФАКТОРА-І У ПОПУЛЯЦІЯХ КУРЕЙ РІЗНИХ ПОРІД

Р.О. Кулібаба<sup>1</sup>, П.С. Юрко<sup>2</sup>, Ю.В. Ляшенко<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>кандидати сільськогосподарських наук

<sup>2</sup>кандидат ветеринарних наук

Інститут тваринництва НААН

вул. 7-ї Гвардійської армії, 3, смт Кулиничі Харківського р-ну

Харківської обл., 61026, Україна

e-mail: rotankx37@gmail.com

Надійшла 14.11.2017

**Мета.** Вивчити розподіл частот гаплотипів у локусах пролактину й інсуліноподібного ростового фактора-І у популяціях курей порід плімутрок білий (лінія Г-2), бірківська барвиста (лінія А), полтавська глиняста (лінія 14) та род-айленд червоний (лінія 38). **Методи.** ПЛР, ПЛР-ПДРФ. **Результати.** Визначено частоти гаплотипів у локусах пролактину та інсуліноподібного ростового фактора-І у дослідних популяціях курей. **Висновки.** Для яєчних курей є характерним переважання частоти гаплотипу ІС за локусом пролактину, в той час як для порід комбінованого напряму продуктивності — гаплотипу DT. За локусом інсуліноподібного ростового фактора-І для популяцій курей порід плімутрок білий та род-айленд червоний є характерним переважання частоти гаплотипу С<sub>2</sub>А, для усіх інших ліній — гаплотипу С<sub>2</sub>С.

**Ключові слова:** поліморфізм, популяція, нерівновага за зчепленням, алель, кури.

Найефективніше отримання продукції — основна мета сучасного промислового птахівництва, для досягнення якої використовують різні наукові інструменти. У селекції птиці до одного із найефективніших інструментів належить маркер-асоційована селекція (MAS, селекція за допомогою маркерів) [1]. Саме з використанням MAS, а також ще сучаснішої методології геномної селекції, провідними селекційними світовими центрами отримано лінії курей, які характеризуються максимальними показниками

продуктивності (яєчної та м'ясної) [2]. Поряд із комерційними лініями курей значна робота проводиться й у напрямі вивчення генетичної структури — фундаменту для наступної селекційної роботи, генофондних (локальних) порід курей різних країн і регіонів [3–5]. Вивчення основних генетико-популяційних параметрів різних порід і ліній курей за сукупністю молекулярно-генетичних маркерів допомагає оцінити рівень генетичної мінливості (алельного різноманіття) аж до окремих генів, що дає змогу отримати

**1. Розподіл частот гаплотипів за локусом пролактину в популяціях курей різних порід української селекції**

Гаплотип	Поліморфізм		Порода курей			
	Indel	C-2402T	Плімутрок білий	Бірківська барвіста	Полтавська глиняста	Род-айленд червоний
1	I	C	0,01	0,82	—	0,06
2	I	T	0,12	0,00	—	0,00
3	D	C	0,15	0,00	—	0,08
4	D	T	0,72	0,18	—	0,86

експериментальні лінії із заданими генотипами за сукупністю локусів. З огляду на це доцільним є вивчення зчеплення різних мутацій (поліморфізмів) у межах одного локусу, що визначає велику вірогідність сумісного успадкування генетичних варіацій. Для аналізу використовують метод оцінки нерівноваги за зчепленням. Нерівновага за зчепленням між двома поліморфними сайтами одного локусу виявляється у відхиленні від випадкового розподілу вірогідності їх зустрічальності [6]. У випадку зчеплення між варіативними ділянками геному (локусу) можливо їх розглядати як один функціональний (зчеплений) елемент успадкування. Аналіз нерівноваги за зчепленням різних варіативних сайтів локусів, кожний з яких корелює з підвищеними продуктивними якостями птиці, дає змогу виявляти особин із найпродуктивнішими гаплотипами та надалі отримувати експериментальні лінії курей за комплексами бажаних гаплотипів. У цьому контексті актуальним є вивчення нерівноваги за зчепленням у функціональних генах, функціонування яких безпосередньо пов'язано з проявом господарсько-корисних ознак курей різних напрямів продуктивності. До подібних перспективних мішеней належать гени пролактину й інсуліноподібного ростового фактора-I.

**Мета досліджень** — проаналізувати розподіл частот гаплотипів у локусах пролактину й інсуліноподібного ростового фактора-I у популяціях курей порід плімутрок білий (лінія Г-2), бірківська барвіста (лінія А), полтавська глиняста (лінія 14) та род-айленд червоний (лінія 38).

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження проводили у лабораторії профілактики захворювань птиці та молекулярної

діагностики Державної дослідної станції птахівництва НААН і в лабораторії молекулярно-генетичних та фізіолого-біохімічних досліджень у тваринництві Інституту тваринництва НААН.

Для проведення досліджень було використано птицю української селекції: курей яєчного напрямку продуктивності, лінія А породи бірківська барвіста; яєчно-м'ясного напрямку продуктивності, лінія 14 породи полтавська глиняста та лінія 38 породи род-айленд червоний; м'ясо-яєчного напрямку продуктивності, лінія Г-2 породи плімутрок білий. Курей утримували у віварії лабораторії. Джерелом ДНК була кров птиці. Проведення виділення ДНК, ампліфікації та рестрикції виконано за методиками, наведеними у наших попередніх роботах. Частоти алелів і генотипів розраховували з використанням стандартних методик [8].

Частоти гаплотипів визначали за допомогою EM-алгоритму з використанням програми EH+ [9]. Розрахунки стандартизованої міри відхилення за зчепленням від рівноважного стану проводили з використанням програми 2LD [10].

**Результати досліджень.** Використання класичної ПЛР і рестрикційного аналізу дало змогу вивчити особливості генетичної структури популяцій курей різних порід української селекції за локусами PRL та IGF-I. З урахуванням отриманих даних про генетичну структуру дослідних популяцій курей різних порід української селекції проведено порівняльний аналіз розподілу частот гаплотипів пролактину за обома поліморфними сайтами. Визначено дані щодо структури та частоти зустрічальності в дослідних популяціях курей різних типів гаплотипів за локусом пролактину (табл. 1).

Повну нерівновагу за зчепленням (complete LD) виявлено в яєчних курей породи бірківська барвіста та яєчно-м'ясних породи род-айленд червоний (в обох випадках значення стандартизованої міри нерівноваги  $D'$  становило 1). У популяції яєчних курей істотно переважає кількість особин з гаплотипом IC (0,82). Водночас у популяції курей породи род-айленд червоний переважають особини з гаплотипом DT (0,86). У свою чергу, в лінії Г-2 м'ясо-яєчних курей також переважають особини з гаплотипом DT (0,72), однак значення  $D'$  у цієї популяції становило 0,72, що істотно переважає поріг значимості у 50%. Факт відхилення від стану генетичної рівноваги свідчить про те, що співвідношення алелів, які формують гаплотип, не випадкове та не визначається простим співвідношенням частот відповідних алельних варіантів окремих локусів. Для полтавських глинястих курей провести аналіз розподілу частот гаплотипів неможливо через мономорфність за однією із мутацій (24 Indel). Перевагу кількості особин з гаплотипом IC у популяції курей яєчного напрямку продуктивності підтверджено даними інших авторів про зв'язок однойменних алелів з підвищеними продуктивними якостями курей різних порід (несучість тощо). Завдяки відбору, проведеному методами класичної селекції для підвищення показників несучості птиці, у дослідній популяції збільшилася кількість бажаних алелів I та C, які формують гаплотип, що й вплинуло на розподіл частот. Однак можливість макування небажаного гаплотипу (щодо яєчної продуктивності) у гетерозиготному стані, що визначається кодомінантним типом наслідування, не дало змоги повністю елімінувати особин з непродуктивним гаплотипом

із популяції. У яєчно-м'ясних курей (лінія 38) спостерігається тенденція до превалювання кількості особин з гаплотипом DT, що, ймовірно, також є опосередкованим результатом селекційної роботи та загальної «вирівненості» лінії, що підтверджується найнижчими серед вивчених популяцій значеннями показників гетерозиготності та ефективної кількості алелів. Слід зазначити, що перевага частоти гаплотипу DT також може бути результатом породної специфічності, яка може йти у розріз із напрямом селекційної роботи. Також важливою є вірогідність породоспецифічності маркера, тобто прояв асоціативного зв'язку із будь-якою ознакою в одній породі курей не обов'язково екстраполюється на інші породи. Питання про зв'язок досліджених алельних варіантів у гені пролактину з показниками продуктивності птиці різних ліній достатньо актуальне та вивчатиметься надалі.

На основі отриманих даних проведено аналіз розподілу частот гаплотипів за локусом інсуліноподібного ростового фактора-I за обома поліморфними сайтами у дослідних популяціях курей. Просумовано дані щодо структури та частоти зустрічальності різних типів гаплотипів у локусі IGF-I у дослідних лініях курей (табл. 2).

Вивчення розподілу частот гаплотипів у кожній із дослідних ліній, за винятком породи плімутрок білий, дає змогу зробити висновки щодо порушення рівноважного стану, тобто у кожній лінії курей частоти гаплотипів не визначаються значенням частот відповідних алелів. Значення нормованої міри відхилення від рівноважного стану  $D'$  коливалось від 0,56 до 0,89; що перевищує значення прийнятого порогу значимості в 50%. Однак під час порівняння розподілу частот гаплотипів

## 2. Розподіл частот гаплотипів за локусом інсуліноподібного ростового фактора-I у дослідних популяціях курей

Гаплотип	Поліморфізм		Порода курей			
	PstI	HinfI	Плімутрок білий	Бірківська барвіста	Полтавська глиняста	Род-айленд червоний
1	C <sub>1</sub>	A	0,14	0,01	0,03	0,06
2	C <sub>1</sub>	C	0,05	0,26	0,33	0,29
3	C <sub>2</sub>	A	0,54	0,26	0,26	0,36
4	C <sub>2</sub>	C	0,27	0,47	0,38	0,29

можна побачити деякі закономірності, які цілком корелюють зі значеннями розподілу алельних частот у відповідних лініях курей. Так, у популяції породи род-айленд червоний частоти гаплотипів  $C_1C$  та  $C_2C$  максимально наближені один до одного за значенням, що не спостерігається в інших лініях курей. Для цієї популяції, а також для м'ясо-яєчних курей є характерним переважання частоти гаплотипу  $C_2A$ , в той час як для всіх інших — гаплотипу  $C_2C$ . При цьому значення стандартизованої міри відхилення від стану рівноваги у лінії Г-2 є мінімальним і не досягає порогу значущості ( $D'=0,23$ ). Популяція яєчних курей породи бірківська барвіста характеризується максимальним значенням стандартизованої міри відхилення від рівноважного стану (0,89), полтавські кури займають проміжне положення ( $D'=0,70$ ).

Такий розподіл можна інтерпретувати напрямом продуктивності птиці. Так, згідно

з літературними джерелами, алель А (HinfI-поліморфізм локусу IGF-I) пов'язаний з підвищеними м'ясними властивостями птиці, зокрема з показниками живої маси [11]. Це відображено у генетичній структурі м'ясних порід курей, для яких характерна виражена перевага частоти алеля А, аж до повної відсутності у популяції гомозиготних особин з генотипом СС. У свою чергу, для курей яєчних порід специфічна перевага значення частоти алеля С. Усе це відображається на характері розподілу алельних частот IGF-I за кожним із поліморфізмів. Також для м'ясо-яєчної птиці характерна, порівняно з іншими дослідними лініями, підвищена частота гаплотипу  $C_1A$ . У будь-якому разі, специфіка генетичної структури ліній курей різних напрямів продуктивності дає передумови для проведення подальшої селекційної роботи з метою максимальної реалізації продуктивного потенціалу птиці.

## Висновки

Визначено частоти гаплотипів у локусах пролактину та інсуліноподібного ростового фактора-I у популяціях курей порід плімутрок білий, бірківська барвіста, полтавська глиняста та род-айленд червоний. Установлено, що для яєчних курей є характерним переважання частоти гаплотипу IC у локусі пролактину, тоді як для порід комбінованого напрямку продуктивності (м'ясо-яєчних та яєчно-м'ясних) — гаплотипу DT. Виявлено виражену нерівновагу за зчепленням у локусі пролактину для яєчних курей породи бірківська барвіста ( $D'=1$ ). Частота зустрічальності гаплотипу IC у цій популяції — 0,82. Також є істотне відхилення від рівноваги

за зчепленням у локусі пролактину для популяції курей породи род-айленд ( $D'=1$ ). Частота гаплотипу DT — 0,86. У локусі інсуліноподібного ростового фактора-I відхилення від стану рівноваги в розподілі гаплотипів показано для популяцій курей породи бірківська барвіста ( $D'=0,89$ ), полтавська глиняста ( $D'=0,56$ ) і род-айленд червоний ( $D'=0,70$ ). У популяції курей породи плімутрок білий відхилення від рівноважного стану в розподілі гаплотипів за локусом IGF-I не виявлено ( $D'=0,23$ ). Для популяції курей порід плімутрок білий та род-айленд червоний є характерним переважання частоти гаплотипу  $C_2A$ , тоді як для усіх інших — гаплотипу  $C_2C$ .

Кулибаба Р.А.<sup>1</sup>, Юрко П.С.<sup>2</sup>, Ляшенко Ю.В.<sup>3</sup>

<sup>1, 2, 3</sup>Інститут животноводства НААН, ул. 7-й Гвардейской армии, 3, смт Кулиничі Харківського р-на Харківської обл., 61026, Україна; e-mail: <sup>1, 2, 3</sup>romankx37@gmail.com

**Аналіз розподілу гаплотипів в локусах пролактину та інсуліноподібного ростового фактора-I в популяціях кур різних порід**

**Цель.** Изучить распределение частот гаплотипов в локусах пролактину и инсулиноподобного

ростового фактора-I в популяціях кур порід плімутрок білий (лінія Г-2), борківська барвіста (лінія А), полтавська глиняста (лінія 14) і род-айленд червоний (лінія 38). **Методи.** ПЦР, ПЦР-ПДРФ. **Результати.** Определены частоты гаплотипов в локусах пролактину и инсулиноподобного ростового фактора-I в опытных популяциях кур. **Выводы.** Для яичных кур характерно преобладание частоты гаплотипа IC по локусу пролактину, в то время как для пород комбинированного направления

продуктивності — гаплотипа DT. По локусу інсуліноподібного ростового фактора-I для популяцій кур порід плімутрок белый и род-айленд красный характерно преобладание частоты гаплотипа C<sub>2</sub>A, для всех остальных линий — гаплотипа C<sub>2</sub>C.

**Ключевые слова:** полиморфизм, популяция, неравновесие по сцеплению, аллель, куры.

Kulibaba R.<sup>1</sup>, Yurko P.<sup>2</sup>, Liashenko Yu.<sup>3</sup>

<sup>1, 2, 3</sup>*Institute of animal husbandries of NAAS, 7 Hvardiiska Armia Str., 3, Kulinichi, Kharkiv area, Kharkiv oblast, 61026, Ukraine; e-mail: <sup>1, 2, 3</sup>romankx37@gmail.com*

**Analysis of allocation of haplotypes in locuses of prolactin and insulin-like growth factor-I in populations of hens of different breeds**

**The purpose.** To study frequency of allocation of haplotypes in locuses of prolactin and insulin-like growth factor-I in populations of hens of breeds Plimutrok bilyi (line G-2), Borkivska barvysta (line A), Poltavaska hlynysta (line 14) and Rod-island chervonyi (line 38). **Methods.** PCR, PCR-RLFP. **Results.** Frequencies of haplotypes in locuses of prolactin and insulin-like growth factor-I in the tested populations of hens are specified. **Conclusions.** For egg hens it is characteristic predominance of frequency of haplotype IC by locus of prolactin, while for breeds of combined direction of productivity — of haplotype DT. By locus of insulin-like growth factor-I for populations of hens of breeds Plimutrok bilyi and Rod-island chervonyi it is characteristic predominance of frequency of haplotype C<sub>2</sub>A, for all other lines — of haplotype C<sub>2</sub>C.

**Key words:** polymorphy, population, disbalance on cohesion, allele, hens.

## Бібліографія

1. *Fulton J.E.* Genomic selection for poultry breeding//J.E. Fulton//Animal frontiers. — 2012. — V. 2, № 1. — P. 30–36.

2. *Wolc A.* Understanding genomic selection in poultry breeding//A. Wolc//World poultry science j. — 2014. — V. 70. — P. 309–314.

3. *Genotypic* frequency in Asian native chicken populations and gene expression using insulin-like growth factor 1 (IGF1) gene promoter polymorphism//H.H. Moe, T. Shimogiri, K. Kawabe et al.// J. Poult. Sci. — 2009. — V. 46. — P. 1–5.

4. *Khadem A.* Association of single nucleotide polymorphisms in IGF-I, IGF-II and IGFBP-II with production traits in breeder hens of Mazandaran native fowls breeding station//A. Khadem, H. Hafezian, G. Rahimi-Mianji//African J. of Biotechnology. — 2010. — V. 9 (6). — P. 805–810.

5. *Polymorphisms* of prolactin gene in a native chicken population and its association with egg production//A.S. Bagheri Sarvestani, A. Niazi, M.J. Zamiri et al.//Iranian j. of veterinary research. — 2013. — V. 14 (2). — P. 113–119.

6. *Slatkin M.* Linkage disequilibrium — understanding the evolutionary past and mapping the

medical future//M. Slatkin//Nature Reviews Genetic. — 2008. — V. 9. — P. 477–485.

7. *Moniruzzaman M.* Application of marker assisted selection for livestock improvement in Bangladesh//M. Moniruzzaman, R. Khatun, A.A. Mintoo//The Bangladesh veterinarian. — 2014. — V. 31 (1). — P. 1–11.

8. *Меркурьева Е.К.* Генетические основы селекции в скотоводстве//Е.К. Меркурьева. — М.: Колос, 1977. — 240 с.

9. *Zhao J.H.* Model-free analysis and permutation tests for allelic associations//J.H. Zhao, D. Curtis, P.C. Sham//Hum Hered. — 2000. — V. 50. — P. 133–139.

10. *Zapata C.* Sampling variance and distribution of the D measure of overall gametic disequilibrium between multiallelic loci//C. Zapata, C. Carollo, S. Rodriguez//Ann Hum Genet. — 2001. — V. 65. — P. 395–406.

11. *Insulin-like* growth factor-I gene polymorphism and its association with growth and slaughter characteristics in broiler chickens//J. Kadlec, B. Hosnedlova, V. Rehout et al.//J. of Agrobiolology. — 2011. — V. 28 (2). — P. 157–163.