Научная статья

УДК 636.592/082.25

# Популяционно-генетические параметры индеек при межпородном скрещивании

**Ирина Васильевна Романенко[1], Валерий Павлович Терлецкий[2]**

[1]Селекционно-генетический центр «Северо-Кавказская ЗОСП» (СГЦ «СКЗОСП») – филиал ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук;
[2]Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных (ВНИИГРЖ) - филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста»

***Аннотация:*** *Методом ДНК-фингерпринтинга впервые были выявлены и оценены популяционно-генетические параметры двух гибридов, 602 и 607, полученных при межпородном скрещивании трех пород основного генофонда индеек отечественной селекции (самцы белой широкогрудой породы, линии ВИ; самки серебристой северокавказской и бронзовой северокавказской пород соответственно) в сравнении с самими этими породами. У гибридов обнаружены специфические для них фрагменты ДНК (№9, 17, 32). Максимальные значения генетических расстояний были определены у гибридов 602 (D = 0,100) и 607 (D = 0,120); у них был также самый низкий коэффициент сходства (0,42 и 0,40 соответственно). Это свидетельствует о высокой гетерозиготности внутри этих популяционных групп, что подтверждают и высокие значения средней гетерозиготности (0,54 и 0,56 соответственно). Полученные данные подтверждают селекционную ценность межпородных гибридов 602 и 607. Исследования по межпородному скрещиванию индеек будут продолжены.*

***Ключевые слова:*** *генофонд индеек, породы, популяции, межпородные гибриды, ДНК-фингерпринтинг, коэффициент сходства, генетические расстояния, гетерозиготность, маркерные фрагменты ДНК.*

***Для цитирования:*** *Романенко, И.В. Популяционно-генетические параметры индеек при межпородном скрещивании / И.В.Романенко, В.П. Терлецкий // Птицеводство. – 2022. – №11. – С. 23-27.*
**doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-11-23-27**

**Введение.** Рост эффективности индейководства невозможен без изучения генетического потенциала, селекционно-племенной работы по совершенствованию существующих и созданию новых высокопродуктивных генотипов, сочетающихся при скрещивании [1,2]. Для этого в птицеводстве широко применяется межпородная гибридизация, обеспечивающая использование всех генетических возможностей повышения продуктивности у полученного потомства. Цель межпородной гибридизации заключается в получении стандартного поголовья, ускорении селекционного процесса по выведению желательных форм и генотипов индеек [3,4]. Поэтому наши исследования были направлены на изучение биологических особенностей индеек разных пород генофонда и межпородных гибридов (МПГ) в области популяционной генетики для дальнейшего использования ценного генетического материала в работе по увеличению производства и повышению рентабельности отрасли [5-7].

Впервые были определены популяционно-генетические параметры индеек новых генотипов групп 602 (МПГ) и 607 (МПГ). Также проведена оценка родительских форм генофонда. С помощью ДНК-фингерпринтинга определены коэффициенты сходства, генетические расстояния, специфические фрагменты, числа фрагментов на генетический локус, уровни гетерозиготности [8].

**Материал и методика исследований.** Материалом для исследований являлись три породы индеек ЦКП БРК и две популяции их межпородных гибридов, полученных при скрещивании по схеме, представленной в табл. 1.

Исследования проводились с 2019 по 2021 гг. на производственной базе СГЦ «СКЗОСП» Ставропольского края, КФХ и в лаборатории молекулярной генетики ВНИИГРЖ. Кровь от индеек отбирали в пробирки с цитратом натрия в количестве 0,5 мл и хранили при -20$^0$С для дальнейшего выделения ДНК. Объектом исследования были образцы ДНК от индеек пород белой широкогрудой линии ВИ, серебристой северокавказской, бронзовой северокавказской и популяций 602 и 607.

Генетическая экспертиза проводилась методом ДНК-фингерпринтинга для подтверждения специфических свойств пород и популяций и отсутствия генетических аномалий при получении новых межпородных генотипов.

Работа включала следующие основные этапы: выделение геномной

**Таблица 1. Схема межпородных скрещиваний индеек**

| Варианты | Схемы гибридизации | | |
|---|---|---|---|
| 1 | Белая широкогрудая порода, линия ВИ | | Серебристая северокавказская порода |
| | ♂ | X | ♀ |
| | | ↓ | |
| | ♂♀ группы 602 (межпородный гибрид) | | |
| 2 | Белая широкогрудая порода, линия ВИ | | Бронзовая северокавказская порода |
| | ♂ | X | ♀ |
| | | ↓ | |
| | ♂♀ группы 607 (межпородный гибрид) | | |

ДНК из крови индеек; расщепление ДНК эндонуклеазой рестрикции с получением фрагментов; разделение фрагментов ДНК в агарозном геле; перенос фрагментов ДНК с геля на нейлоновый фильтр; прегибридизация и гибридизация ДНК с олигонуклеотидным зондом; детекция мест связывания зонда с фрагментами ДНК; анализ распределения фрагментов ДНК на фильтре с расчетом популяционно-генетических параметров.

С помощью ДНК-фингерпринтинга выявлялись гибридизационные полосы фрагментов геномной ДНК, характерные для каждого образца. При анализе общих полос и частот их встречаемости можно судить о внутрипородном и межпородном разнообразии – о гетерозиготности. Так, в наших исследованиях были изучены частоты встречаемости фрагментов ДНК и аллелей, уровни средней гетерозиготности, рассчитаны генетические расстояния, выявлены специфические (маркерные) фрагменты для новых генотипов индеек, полученных при межпородном скрещивании.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Популяционно-генетические параметры трех пород индеек ЦКП БРК и двух межпородных гибридов (МПГ), полученных при скрещивании этих пород, представлены в табл. 2. У белой широкогрудой породы, линии ВИ, используемой в качестве отцовской формы для получения гибридов, отмечалось максимальное количество полос на дорожку – 29,60, минимальное – у межпородного гибрида 607 (на уровне 25,20). МПГ 602 наследовал от родителей на 3,41 полос меньше от средней нормы, МПГ 607 наследовал на 2,60 полос меньше своей средней родительской нормы.

Самой высокой вероятностью встречаемости особей с идентичным набором фрагментов ДНК обладала белая широкогрудая порода, линии ВИ ($9{,}7\pm10^{-6}$), самой низкой вероятностью встречаемости – серебристая северокавказская порода ($1{,}31\pm10^{-9}$). У МПГ 602 и 607 данный показатель находился на уровне $4{,}00\pm10^{-9}$ и $3{,}40\pm10^{-9}$ соответственно. Бронзовая северокавказская порода отличалась от белой широкогрудой породы, линии ВИ на 8,39 единиц.

Коэффициент сходства (BS) показывает долю общих фрагментов ДНК, имеющих идентичный размер на фильтре, от общего количества фрагментов. Наиболее низкий коэффициент сходства был у МПГ 602 (0,42) и МПГ 607 (0,40), что свидетельствует о высоком разнообразии (гетерозиготности) внутри этих популяций. Самый высокий BS наблюдался у бронзовой северокавказской породы (0,59) и линии ВИ белой широкогрудой (0,46), которые являлись результатом длительной селекции внутри пород.

На основе полученных данных были определены генетические расстояния между породами и популяциями и проведены попарные сравнения значений генетического расстояния (D). Максимальные значения генетического расстоя-

**Таблица 2. Популяционно-генетические параметры трех пород и двух гибридных популяций индеек отечественной селекции**

| № п/п | Породы, популяции индеек | n | Полос на дорожку, X ± m | P* | BS** | D*** попарные сравнения | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Белая широкогрудая порода, линия ВИ | 10 | 29,60±1,10 | $9{,}7\pm10^{-6}$ | 0,46 | 1-2: 0,100 | 1-3: 0,070 | 1-4: 0,120 | 1-5: 0,050 |
| 2 | Серебристая северокавказская порода | 11 | 25,82±3,18 | $1{,}31\pm10^{-9}$ | 0,45 | 2-3: 0,060 | | | |
| 3 | Популяция: группа 602 (МПГ) | 10 | 24,30±2,20 | $4{,}00\pm10^{-9}$ | 0,42 | 1-2: 0,100 | | | |
| 4 | Бронзовая северокавказская порода | 10 | 26,00±2,06 | $1{,}31\pm10^{-6}$ | 0,59 | 4-5: 0,060 | | | |
| 5 | Популяция: группа 607 (МПГ) | 10 | 25,20±1,70 | $3{,}40\pm10^{-9}$ | 0,40 | 1-4: 0,120 | | | |

**Примечание**: P* – вероятность встречаемости двух особей с идентичным набором фрагментов ДНК; BS** – коэффициент сходства внутри пород и популяций; D*** – попарные сравнения значений генетического расстояния между группами индеек.

**Таблица 3. Специфические фрагменты ДНК и аллели, имеющие разную частоту встречаемости, рассчитанные методом ДНК-фингерпринтинга**

| Фрагмент, номер | Частота встречаемости фрагментов ДНК | | | | | Частота встречаемости аллелей | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 9 | | | 0,40 | | 0,90 | | | 0,23 | | 0,70 |
| 12 | | | | 0,20 | | | | | 0,11 | |
| 17 | | | 0,20 | | 0,40 | | | 0,10 | | 0,23 |
| 27 | | | | 0,10 | | | | | 0,05 | |
| 28 | 1,00 | | | | | 1,00 | | | | |
| 32 | | | 0,20 | | 0,40 | | | 0,10 | | 0,23 |
| 37 | | 0,27 | | | | | 0,15 | | | |
| 38 | | 0,09 | | | | | 0,05 | | | |
| 43 | | | | 0,80 | | | | | 0,55 | |
| 56 | | | | 0,90 | | | | | 0,68 | |

**Обозначения групп**: 1 – белая широкогрудая порода, линия ВИ; 2 – серебристая северокавказская порода; 3 – группа 602 (межпородный гибрид); 4 – бронзовая северокавказская порода; 5 – группа 607 (межпородный гибрид).

**Таблица 4. Внутрипопуляционное генетическое разнообразие групп индеек (число аллелей на один локус, число полиморфных локусов и уровни средней гетерозиготности)**

| № п/п | Породы и популяции индеек | n | Число локусов | Число аллелей на локус | Число полиморфных локусов | $H^1$ | $H^2$ | $H^*$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Белая широкогрудая, линия ВИ | 10 | 12,50 | 3,10 | 0,76 | 0,40 | 0,44 | 0,42 |
| 2 | Серебристая северокавказская | 11 | 15,83 | 3,92 | 1,00 | 0,63 | 0,73 | 0,68 |
| 3 | Группа 602 (МПГ) | 10 | 13,00 | 2,70 | 0,80 | 0,54 | 0,60 | 0,59 |
| 4 | Бронзовая северокавказская | 10 | 17,93 | 3,18 | 0,72 | 0,44 | 0,52 | 0,48 |
| 5 | Группа 607 (МПГ) | 10 | 14,60 | 2,60 | 0,86 | 0,56 | 0,64 | 0,62 |

**Примечание**: $H^1$ – средняя гетерозиготность по Stephens (1992, [5]); $H^2$ – скорректированная средняя гетерозиготность (Rogsted & Pelican, 1996 [6]); $H^3$ – средняя гетерозиготность по Jin & Chakraborty (Rogsted & Pelican, 1996 [6]).

ния были выявлены у популяции 602 (МПГ) – 0,100 и популяции 607 (МПГ) – 0,120, что говорит в пользу новых генотипов. Наиболее близкими оказались породы индеек серебристая северокавказская и бронзовая северокавказская (D = 0,060).

В табл. 3 представлены частоты встречаемости фрагментов ДНК и частоты встречаемости аллелей, рассчитанные методом ДНК-фингерпринтинга при межпородных скрещиваниях.

При анализе распределения фрагментов ДНК были установлены специфические, маркерные фрагменты, характерные только для отдельных пород и МПГ. Так, фрагмент №9 с частотой встречаемости фрагментов ДНК 0,40 и частотой встречаемости аллелей 0,23 был характерен группе 602, и при частоте встречаемости фрагментов ДНК 0,90 и частоте встречаемости аллелей 0,70 был характерен группе 607. Также для МПГ 602 и 607 были характерны фрагменты №17 и №32. Вышеперечисленные фрагменты говорят о генетическом отличии данных гибридов от трех основных пород индеек, участвовавших в их образовании. Специфические фрагменты позволяют идентифицировать принадлежность их к определенному генотипу. Так, фрагмент №28 встречался только у белой широкогрудой породы, линии ВИ. Для серебристой северокавказской породы характерны фрагменты №37 и №38. У бронзовой северокавказской породы встречались только фрагменты №12, 27, 43 и 56.

Важной является оценка генетического разнообразия (вариабельности) в малочисленных генофондных популяциях индеек, которые являются носителями ценных комбинаций генов, утерянных в промышленных линиях и породах. Поддержание необходимого разнообразия в популяциях способствует сохранению генофонда. Молекулярная генетика предлагает в этой связи способы мониторинга состояния генофондной птицы. В частности, возможность одновременного учета многих генетических локусов в геноме позволяет рассчитывать среднюю гетерозиготность. Планирование работы по разведению генофондной птицы с учетом данных по средней гетерозиготности дает возможность обеспечить необходимый уровень разнообразия при сохранении генетических ресурсов. Создание новых экспериментальных популяций с определенными уникальными свойствами имеет сейчас большое значение.

В наших исследованиях при изучении исследуемых популяций – МПГ 602 и 607 – выявлены особенности генома, которые появляются в процессе селекции (табл. 4). При изучении внутрипопуляционного разнообразия по критерию средней гетерозиготности более низкая вариабельность отмечалась в белой широкогрудой породе, линии ВИ (0,40) и бронзовой северокавказской породе (0,44). Это можно объяснить продолжительной и интенсивной селекцией в этих породах.

Наиболее высокий уровень средней гетерозиготности отмечался у межпородных гибридов групп 602 и 607 – 0,54 и 0,56 соответственно, а также у серебристой северокавказской породы – 0,63, что свидетельствует о лучшем генетическом разнообразии данных популяций и породы. Каждый генный локус представлен у каждого индивидуума двумя аллелями, или копиями, пришедшими от двух родителей. По числу аллелей на один локус пониженное значение наблюдалось у групп 602 и 607 – 2,70 и 2,60 соответственно. Повышенное значение имела серебристая северокавказская порода – 3,92. На уровне популяций у полиморфного локуса существует множество типов аллелей. Наибольшее количество было у серебристой северокавказской (1,00), групп МПГ 602 и 607 (0,80 и 0,86 соответственно), что также говорит о большом генетическом разнообразии.

**Заключение.** Проведенная генетическая экспертиза трех пород основного генофонда и двух популяций нового генофонда подтвердила достоверность их происхождения и отсутствие генетических аномалий. Данные по созданию МПГ 602 и 607 подтверждаются молекулярно-генетическим анализом посредством ДНК-фингерпринтинга.

Выявленные специфические гены позволяют идентифицировать породы и МПГ. Так, специфические фрагменты №9, 17, 32 были выявлены только у МПГ 602 и 607.

Максимальные значения генетических расстояний были определены у МПГ 602 (D = 0,100) и МПГ 607 (D = 0,120). У этих гибридов был самый низкий коэффициент сходства: у 602 группы – 0,42, у 607 группы – 0,40, что свидетельствует о высокой гетерозиготности внутри этих популяционных групп.

Максимальные значения внутрипопуляционного генетического разнообразия были получены в группе индеек серебристая северокавказская, также в группах МПГ 602 и 607 (значения средней гетерозиготности по Stephens 0,54 и 0,56 соответственно). Низкие показатели отмечены в линии ВИ белой широкогрудой породы индеек, что можно объяснить продолжительной интенсивной селекцией этой линии на протяжении многих лет.

При выведении белой широкогрудой породы также использовали интенсивную селекцию с отбором желаемых фенотипов. Исследования по межпородному скрещиванию индеек будут продолжены.

***Работа была поддержана бюджетным государственным финансированием по теме НИОКТР № 1210301000-24-2 при поддержке госзадания 0445-2021-0010.***

**Литература**

1. Селекционно-племенная работа в птицеводстве / Я.С. Ройтер, А.В. Егорова, А.П. Коноплева [и др.]. - Сергиев Посад: ВНИТИП, 2016. - 287 с.
2. Бачкова, Р.С. Селекция сельскохозяйственной птицы и ее будущее в России / Р.С. Бачкова // Птицеводство. - 2012. - №12. - С. 2-8.
3. Наставления по сохранению и использованию биоресурсной коллекции сельскохозяйственной птицы / Я.С. Ройтер, А.В, Егорова, Л.Г. Коршунова [и др.]. - Сергиев Посад: ВНИТИП, 2018. - 129 с.
4. Шепляков, А.В. Основной генофонд индеек отечественной селекции / А.В. Шепляков, Л.А. Шинкаренко, Н.Г. Щербакова, И.В. Романенко, К.Ф. Байдиков // Птицеводство. - 2021. - №9. - С. 22-27.
5. Stephens, J.C. Estimation of heterozygosity for single-probe multilocus DNA fingerprints / J.C. Stephens, D.A. Gilbert, N. Yuhki, S.J. O'Brien // Mol. Biol. Evol. -1992. - V. 9. - No 4. - P. 729-743.
6. Rogstad, S.H. GELSTATS: a computer program for population genetics analysis using VNTR multilocus probe data / S.H. Rogstad, S. Pelican // Biotechniques. - 1996. - V. 21. - No 6. - P.1128-1131.
7. Терлецкий, В.П. Продуктивные и популяционно-генетические показатели индеек нового генофонда / В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко, В.А. Погодаев, И.В. Романенко, А.В. Шепляков, Л.А. Шинкаренко // С.-х. журнал. - 2022. - №1. - С. 69-77.
8. Шинкаренко, Л.А. Генетические особенности пород индеек биоресурсной коллекции Селекционно-генетического центра «СКЗОСП» / Л.А. Шинкаренко, В.П. Терлецкий, В.И. Тыщенко // Птицеводство. - 2020. - №9. - С. 17-21.

**Сведения об авторах:**

**Романенко И.В.:** научный сотрудник отдела селекции и генетики, аспирант; skzospsel@yandex.ru. **Терлецкий В.П.:** доктор биологических наук, профессор; valeriter@mail.ru.

Статья поступила в редакцию 15.08.2022; одобрена после рецензирования 09.10.2022; принята к публикации 19.10.2022.

**Research article**

## DNA Fingerprinting in Interbreed Hybrid Populations of Turkeys

Irina V. Romanenko[1], Valery P. Terletsky[2]

[1]Center for Selection & Genetics «North-Caucasian Zonal Experimental Station for Poultry", branch of the Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences; [2]All-Russian Research Institute of Animal Genetics and Breeding, branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry of L.K. Ernst

***Abstract.*** *The genetic parameters in newly selected interbreed turkey hybrids 602 and 607 (males of White Wide-breasted breed, line VI; females of Silver North-Caucasian and Bronze North-Caucasian breeds, respectively) and parental breeds and line were comparatively studied by DNA fingerprinting. It was found that the hybrids have their own unique DNA fragments (No 9, 17 and 32) absent in parents. As compared to the latter, hybrids featured maximal genetic distances (0.100 and 0.120 for hybrids 602 and 607, respectively), lowest similarity coefficients (0.42 and 0.40), and high coefficients of average heterozygozity (0.54 and 0.56) evidencing high levels of internal genetic diversity in these hybrids. These data confirmed the worthiness of hybrids 602 and 607 for the selection of turkeys. The studies on the interbreed crossings in turkeys will be continued.*

***Keywords:*** *gene pool of turkeys, breeds, populations, interbreed hybrids, DNA fingerprinting, similarity coefficient, genetic distance, heterozygozity, marker DNA fragments.*

***For Citation:*** *Romanenko I.V., Terletsky V.P. (2022) DNA fingerprinting in interbreed hybrid populations of turkeys. Ptitsevodstvo, 71(11): 23-27. (in Russ.)*
**doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-11-23-27**

### References

**1.** Roiter YS, Egorova AV, Konopleva AP [*et al.*] (2016) Selection and Breeding of Poultry. Sergiev Posad, VNITIP, 287 pp. (in Russ.). **2.** Bachkova RS (2012) Selection of poultry and its prospects in Russia. *Ptitsevodstvo*, (12):2-8 (in Russ.). **3.** Roiter YS, Egorova AV, Korshunova LG [*et al.*] (2018) Manual on Preservation and Use of Gene Pool Collections of Poultry. Sergiev Posad, VNITIP, 129 pp. (in Russ.). **4.** Sheplyakov AV, Shinkarenko LA, Shcherbakova HG, Romanenko IV, Daydikov KF (2021) *Ptitsevodstvo*, (9):22-7; doi 10.33845/0033-3239-2021-70-9-22-27 (in Russ.). **5.** Stephens JC, Gilbert DA, Yuhki N, O'Brien SJ (1992) *Mol. Biol. Evol.*, **9**(4):729-43; doi 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040755. **6.** Rogstad SH, Pelican S (1996) *Biotechniques*, **21**(6):1128-31; doi 10.2144/96216bc05. **7.** Terletsky VP, Tyshchenko VI, Pogodaev VA, Romanenko IV, Sheplyakov AV, Shinkarenko LA (2022) *Agric. J.*, (1):69-77; doi 10.25930/2687-1254/009.1.15.2022 (in Russ.) **8.** Shinkarenko LA, Terletsky VP, Tyshchenko VI (2020) *Ptitsevodstvo*, (9):17-21; doi 10.33845/0033-3239-2020-69-9-17-21 (in Russ.).

**Authors:**

**Romanenko I.V.:** Research Officer, Dept. of Selection and Genetics, Aspirant; skzospsel@yandex.ru. **Terletsky V.P.:** Dr. of Biol. Sci., Prof.; valeriter@mail.ru.

Submitted 15.08.2022; revised 09.10.2022; accepted 19.10.2022.

**© Романенко И.В., Терлецкий В.П., 2022**