

Генетическая и фенотипическая характеристика четырех отечественных пород кур

Коршунова Л.Г., доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела генетики и селекции
ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»
Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН)

Гладырь Е.А., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биотехнологии и молекулярной
диагностики животных

ФГБНУ Федеральный научный центр животноводства - ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста

Севастьянова А.А., старший научный сотрудник отдела генетики и селекции

Карапетян Р.В., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела генетики и селекции
ФНЦ «ВНИТИП» РАН

Аннотация: Изучена генетическая и фенотипическая характеристика отечественных пород кур адлерская серебристая, московская, панциревская черная, русская хохлатая. Птица была генотипирована по 7 микросателлитным локусам (МС). Анализ МС выявил 40 аллелей, 90% которых имели частоту встречаемости выше 5%. Количество выявленных аллелей на локус (Na) варьировало от 8 до 3. Среднее число эффективных аллелей (Ne) составило $2,56 \pm 0,22$. Частоты аллелей в локусах варьировали от 0,050 до 1,000. Средние значения наблюдаемых (No) и ожидаемых (He) уровней гетерозиготности составили $0,570 \pm 0,050$ и $0,543 \pm 0,033$ соответственно. Уровень внутривидового разнообразия (FIS) $-0,070$ указывает на некоторый избыток гетерозигот. Равновесный тест Харди-Вайнберга показал сохранение равновесия во всех локусах. Анализ пространственного распределения пород, основанный на генотипе каждой особи по МС, а также на числе и частотах встречаемости аллелей, общих для каждой из групп, показал высокую степень консолидированности изучаемых пород: 100% птицы пород адлерская серебристая, панциревская черная, русская хохлатая и 90,0% - породы московская были отнесены к собственной популяции. Фенотипическое и генетическое описание изученных отечественных пород кур проведено в соответствии с международной практикой породного разведения. Получена генетическая характеристика породных маркеров по основным признакам стандарта, проведена оценка фенотипа по признакам полигенной природы.

Ключевые слова: куры, порода, генотип, фенотип, микросателлиты, полимеразная цепная реакция (ПЦР), гены-маркеры.

Введение. Сохранение генофонда местных пород кур является важнейшей задачей для дальнейшего развития птицеводства. Сохранение породы или ее местной популяции обеспечивает сохранение определенных комплексов генов, сложившихся в процессе эволюции под воздействием отбора в конкретных условиях среды. Оценка генофонда отечественных малочисленных пород кур должна включать достаточно обширный

комплекс информации, в том числе молекулярно-генетических данных, дающих объективную характеристику пород [1-3]. Объективная оценка генофонда отечественных пород кур является необходимым условием для эффективного ведения племенной работы. Использование знаний об уровнях гомо- и гетерозиготности, генетического разнообразия, степени инбридинга позволит контролировать и управлять процессом разведе-

дения и селекции птицы.

Для характеристики пород и популяций сельскохозяйственной птицы применяются различные методы генетической паспортизации. На сегодня в нашей стране отсутствует единая унифицированная методика определения породной принадлежности сельскохозяйственной птицы в целом, и кур в частности, с использованием ДНК-маркеров [4].

В качестве инструмента изуче-



ния генома, характеристики генофонда существующих пород кур и для их ДНК-паспортов могут быть использованы микросателлитные маркеры. Микросателлиты представляют собой фрагменты ДНК с большим количеством tandemно повторяющихся коротких последовательностей из нескольких пар нуклеотидов, называемых повторами (short tandem repeat, STR). Они высокополиморфны, с несколькими аллелями в каждом локусе. Аллели микросателлитного локуса отличаются друг от друга длиной, в основном, числом повторов. Небольшие размеры микросателлитных локусов позволяют применять метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в целях генотипирования и обеспечить высокую воспроизводимость результатов в различных лабораториях.

Генотипирование птицы по микросателлитным маркерам дает возможность оценить генетическую изменчивость, определить генетическое родство между различными породами, устанавливать их генетическую консолидацию [5]. С использованием микросателлитов был охарактеризован аллелофонд отдельных пород кур, индеек и перепелов [6,7].

Цель наших исследований заключалась в проведении молекулярно-генетического анализа отечественных малочисленных пород кур адлерская серебристая, московская, панциревская черная, русская хохлатая при использовании семи микросателлитных локусов для идентификации их породной принадлежности и получения их генетической и фенотипической характеристики.

Материал и методика исследова-

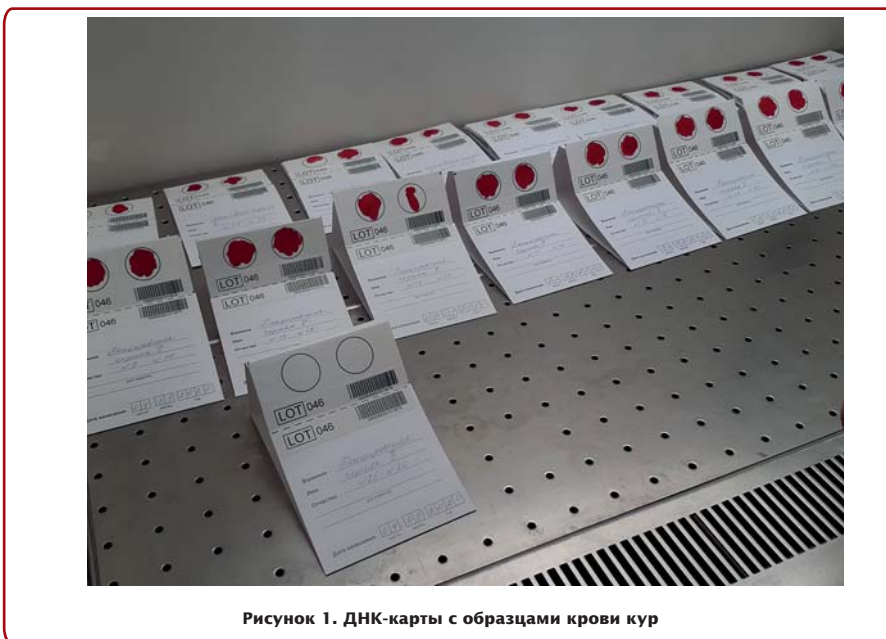


Рисунок 1. ДНК-карты с образцами крови кур

дований. Для проведения исследований были использованы петушки из генофондного стада ООО «Генофонд» (Московская обл.) четырех пород: адлерская серебристая (АДЛ_С), московская (МОС), панциревская черная (ПНЦ_Ч), русская хохлатая (РУС_Х). В качестве источника ДНК использовали кровь. Кровь отбирали из гребня с помощью скарификатора путем нанесения капель крови на карту для сбора образцов биоматериала («ДНК-карта», ООО «Компания Алкор Био»). Карта обеспечивает сохранность ДНК в высушенном пятне крови с возможностью дальнейшего проведения амплификации непосредственно с носителя. Специальная пластина карты для нанесения биоматериала пропитана лизирующим буфером. Буфер предназначен для лизиса клеток, денатурации белков, стабилизации нуклеиновых кислот и их защиты от действия нуклеаз, а также для подавления и предотвращения роста бактерий и других микроорганизмов.

Для сбора образцов кровь наносили в специально обозначенную

зону «ДНК-карты»; после нанесения образцы высушивали в течение 12 ч, после чего они готовы к использованию или хранению (рис. 1). Образцы могут храниться при комнатной температуре (+18-25⁰С) в защищенном от избыточной влажности и прямых солнечных лучей месте для последующего проведения молекулярно-генетического анализа. Благодаря таким свойствам ДНК-карты используются для создания биобанков.

Был сформирован банк ДНК (n=89) 4 изучаемых пород кур. Лабораторные анализы крови выполнены на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Использована мультилокусная система анализа микросателлитов, включающая 7 локусов: LEI0094, MCW0067, MCW0069, MCW0081, MCW0111, MCW0123, MCW0183. Исследование полиморфизма STR было выполнено на генетическом анализаторе ABI 3130x1 (Applied Biosystems, США).



Таблица 1. Характеристика аллельного разнообразия и уровня гетерозиготности в 4 исследованных породах кур

Порода	Na	Ne	I	Ho	He	Разность Ho-He	FIS
ПНЦ_Ч	3,857±	2,835±	1,076±	0,567±	0,592±	-0,025	0,033±
	0,705	0,490	0,157	0,067	0,057		0,077
МОС	3,857±	2,932±	1,090±	0,570±	0,582±	0,012	-0,016±
	0,553	0,573	0,165	0,074	0,073		0,096
РУС_Х	3,857±	2,440±	1,041±	0,570±	0,570±	0	0,000±
	0,261	0,230	0,079	0,074	0,036		0,110
АДЛ_С	2,143±	2,029±	0,656±	0,571±	0,429±	0,142	-0,333±
	0,340	0,356	0,153	0,170	0,086		0,276
В среднем по всей выборке	3,429±	2,559±	0,966±	0,570±	0,543±	0,027	-0,070±
	0,274	0,215	0,076	0,050	0,033		0,077

Примечание: Na - среднее число выявленных аллелей, Ne - число эффективных аллелей, Ho - фактическая гетерозиготность, He - ожидаемая гетерозиготность, Fis - индекс фиксации.

Таблица 2. Характеристика уровня F-статистики

Локус	Fis	Fit	Fst
LEI0094	0,188	0,382	0,238
MCW0067	-0,047	0,310	0,341
MCW0069	0,007	0,263	0,257
MCW0081	-0,038	0,151	0,182
MCW0111	-0,285	-0,161	0,097
MCW0123	-0,290	-0,139	0,117
MCW0183	0,222	0,435	0,273
В среднем по всем локусам	-0,035±0,076	0,177±0,091	0,215±0,033

Таблица 3. Характеристика частных аллелей

Порода	Локус	Аллель	Частота
ПНЦ_Ч	MCW0069	161	0,500
		163	0,214
		88	0,050
МОС	LEI0094	80	0,050
		252	0,444
		167	0,143
РУС_Х	MCW0069	177	0,143
		276	0,167
		169	0,056
АДЛ_С	MCW0081	112	0,111
		122	0,250

Статистическая обработка данных производилась с использованием программного обеспечения MS Excel и стандартных статистических программ GenAEx 6.503 и Past.

Результаты исследований и их обсуждение. Анализ 7 микросателлитных локусов в четырех породах кур (табл. 1-3) выявил 40 аллелей, из которых 36 (90,0%) имели частоту встречаемости выше 5%. Наибольшей вариабельностью характеризовались локусы MCW0123 (8 аллелей), MCW0069 (7 аллелей) и MCW0111 (6 аллелей).

Количество выявленных аллелей на локус (Na) варьировало от 8 до 3, со средним значением $3,43 \pm 0,27$. Среднее число эффективных аллелей (Ne) составило $2,56 \pm 0,22$. Частоты аллелей в локусах варьировали от 0,050 до 1,000. Средние значения наблюдаемых (Ho) и ожидаемых (He) уровней гетерозиготности составили $0,570 \pm 0,050$ и $0,543 \pm 0,033$ соответственно. Уровень внутривидового разнообразия (FIS, в среднем $-0,070 \pm 0,077$) указывает на некоторый избыток гетерозигот. Равновесный тест Харди-Вайнберга показал сохранение равновесия во всех локусах. Стоит отметить, что полученные результаты требуют уточнения в дальнейших исследованиях на большем поголовье птицы.

Аллели с частотой встречаемости выше 5% (выделены жирным шрифтом), могут оказывать значимое влияние на состояние аллелофонда породы.

По курам изучаемых пород была проведена работа, обеспечившая преемственность в улучшении породных качеств, большего соответствия их породным стандартам. Оценены их основные породные характеристики.

Таблица 4. Породные маркеры изучаемых пород кур

Показатель	Порода			
	АДЛ_С	МОС	ПНЦ_Ч	РУС_Х
Окраска скорлупы яиц	коричневая (mf*)	светло-коричневая	кремовая (mf*)	кремовая различной интенсивности
Окраска кожи	желтая (w*)	желтая	белая	желтая
Окраска плюсны	желтая (id*)	черная	белая	зависит от окраски оперения
Форма гребня	листовидная (r*)	листовидная	листовидная	листовидная, розовидная
Окраска глаз	красная (Br)	красная	оранжевая	оранжево-красная
Окраска ушных мочек	красная (mf*)	красная, красная с белыми вкраплениями, белая	красная, красная с белыми вкраплениями, белая	красная, красная с белым вкраплением, белая
Специфические маркеры и признаки			серый подпук	хохол (Cr)



Таблица 5. Фенотипическое и генетическое описание окраски оперения у кур изучаемых пород

Показатель	Порода			
	АДЛ_С	МОС	ПНЦ_Ч	РУС_Х
Окраска пуха суточных цыплят	Светло-желтая	Черная	Черная	Черная
Окраска оперения	Светлая колумбийская	Черная с золотистой гривой у кур (а также спиной и плечами у петухов)	Черная	Черная с серебристой гривой у кур (а также спиной и плечами у петухов)
Генетические маркеры	S, Co, e ^{wh}	s ⁺ , E	S, E	S, E

Породы были оценены по рекомендуемым породным маркерам: окраске скорлупы яиц (mf), окраске кожи (Id, W), форме гребня (R, P), окраске радужной оболочки глаз (Br⁺), окраске ушных мочек (mf), окраске плюсны (Id, W), окраске оперения (I, E, B, Ml, S, Co, mo), наличию хохла (Cr) и др. (табл. 4).

Фенотипическое и генетическое описание окраски оперения у кур

представлено в табл. 5.

Результаты исследований показали, что продуктивные и воспроизводительные качества изучаемых пород кур в 2020 г. находились на уровне показателей, характерном для сохраняемых пород (табл. 6).

Анализ пространственного распределения пород кур (рис. 2), основанный на генотипе каждой

Таблица 6. Хозяйственно-полезные качества изучаемых пород кур

Показатель	Порода			
	АДЛ_С	МОС	ПНЦ_Ч	РУС_Х
Оплодотворенность яиц, %	99,2	96,5	99,3	95,2
Вывод цыплят, %	83,3	74,3	86,4	77,4
Яйценоскость за 58 нед. жизни, шт.	122,2	118,3	135,1	121,0
Масса яйца в 52 нед. жизни, г	61,5	59,1	60,4	57,0
Живая масса петухов в 52 нед. жизни, г	2895	2678	2288	2234
Живая масса кур в 52 нед. жизни, г	2515	2559	2160	1840

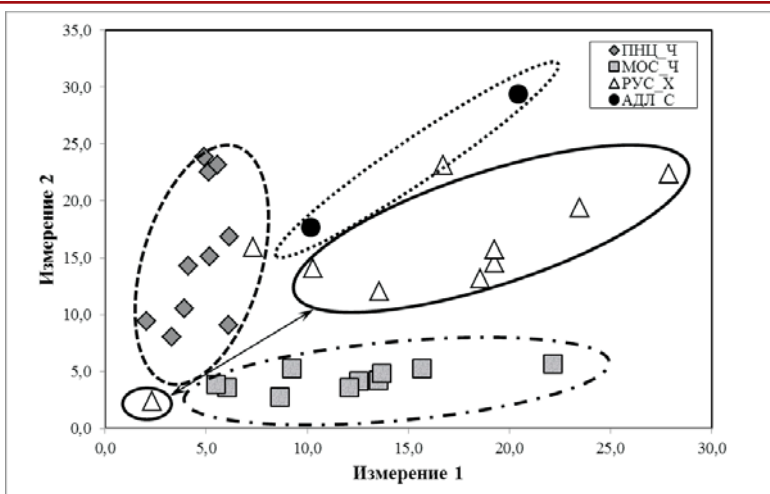


Рисунок 2. Двумерное распределение в изучаемых породах кур по принадлежности к собственной популяции на основании анализа полиморфизма микросателлитов

особи по микросателлитным локусам, а также на числе и частотах встречаемости аллелей, общих для каждой из групп (по Paetkau), показал высокую степень консолидированности изучаемых пород: 100,0% птицы пород ПНЦ_Ч, РУС_Х, АДЛ_С и 90,0% - породы МОС были отнесены к собственной популяции.

Закключение. Проведено фенотипическое и генетическое описание кур пород панциревская черная, русская хохлатая, адлерская серебристая, московская в соответствии с международной практикой породного разведения. Получена генетическая характеристика породных маркеров у изученных пород по основным признакам стандарта, проведена оценка фенотипа по признакам полигенной природы.

Результаты проведенных исследований, направленные на изучение состояния и динамики аллелофонда, генетической консолидированности отечественных пород кур найдут применение в их ДНК-паспортизации.

Литература

1. Ройтер Я.С. Использование в селекции птицы отечественного генофонда // Мировое и российское птицеводство: состояние, динамика развития, инновационные перспективы: Мат. XX Междунар. конф. ВНАП. - Сергиев Посад, 2020. - С. 132-136.
2. Егорова А.В. Использование геномодификаторов в работе с мясными курами // Птицеводство. - 2018. - №10. - С. 2-7.
3. Сулимова Г.Е., Оюн Н.Ю., Севастьянова А.А., Александров А.В., Вахрамеев А.Б., Кузванова А.Ю. [и др.] Характеристика орловской породы кур ситцевой разновидности по полиморфизму локусов, ассоциированных с вирусными заболеваниями // Генетика. - 2017. - Т. 53, №10. - С. 1187-1195.

4. Коршунова Л.Г., Карапетян Р.В. Молекулярная генетика в селекции сельскохозяйственной птицы // Птицеводство. - 2018. - №2. - С. 2-5.

5. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А. Генетическая экспертиза сельскохозяйственных животных: применение тест-систем на основе микросателлитов // Достижения науки и техники АПК. - 2011. - №9. - С. 19-20.

6. Волкова В.В., Хатиб А., Кленовицкий

П.М., Никишов А.А., Аншаков Д.В., Гладырь Е.А. Характеристика аллелофонда двух популяций перепелов эстонской породы // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. - 2016. - №9-1. - С. 20-24.

7. Новгородова И.П., Гладырь Е.А., Фисинин В.И., Зиновьева Н.А. Идентификация породной принадлежности кур на основе микросателлитного анализа // Достижения науки и техники

АПК. - 2015. - №11. - С. 88-90.

Для контакта с авторами:

Коршунова Людмила Георгиевна

E-mail: lg@vnitip.ru

Гладырь Елена Александровна

E-mail: elenagladyr@mail.ru

Севастьянова Антонина Алексеевна

E-mail: en-550-60-40@yandex.ru

Карапетян Рубен Ваагнович

E-mail: ruben@vnitip.ru

Genetic and Phenotypic Characterization of Four Russian Chicken Breeds

Korshunova L.G.¹, Gladyr E.A.², Sevastyanova A.A.¹, Karapetyan R.V.¹

¹Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences; ²Federal Science Center for Animal Husbandry of L.K. Ernst



Summary: The genetic and phenotypic characterization of four Russian chicken breeds (Adler Silver AS, Moskovskaya M, Pantsirevskaya Black PB, Russian Crested RC) in accordance with the international breeding practice was performed. Seven microsatellite loci were genotyped. The analysis revealed 40 alleles, 90% with frequencies above 5%. The number of alleles per locus varied from 8 to 3; average number of effective alleles was 2.56 ± 0.22 . The frequencies of alleles within the loci varied from 0.050 to 1.000. Average levels of observable and expected heterozygosity were 0.570 ± 0.050 and 0.543 ± 0.033 , respectively. Level of intrabreed diversity (FIS-0.070) indicated certain excess of the heterozygotes. The Hardy-Weinberg test indicated the maintenance of equilibrium in all loci studied. The analysis of spatial distribution of the breeds (based on individual genotyping of microsatellite loci and on the numbers and frequencies of the common alleles) indicated high level of the consolidation in the breeds studied (100% in AS, PB, and RC and 90.0% in M). The genetic characterization of phenotypic markers of the breed standards was performed; certain polygenic phenotypic traits were assessed.

Key words: chicken, breed, genotype, phenotype, microsatellites, polymerase chain reaction, marker genes.