



Оценка консолидированности отечественных пород кур на основе микросателлитного анализа ДНК

Людмила Георгиевна Коршунова¹, Рубен Ваагнович Карапетян¹, Елена Александровна Гладырь²

¹ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН); ²ФГБНУ Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста (ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста)

Аннотация: Представлен краткий анализ современных подходов к генетической идентификации породной принадлежности животных, включая птиц. Рассмотрены молекулярно-генетические методы исследования ДНК-полиморфизма для оценки генетической ценности и потенциала с целью научного обоснования сохранения той или иной породы. Проведена оценка генетической консолидированности отечественных пород кур (панциревская черная, московская черная, русская хохлатая, адлерская серебристая) по 7 микросателлитным локусам. Установлена высокая генетическая консолидированность изученных пород.

Ключевые слова: куры, консолидированность породы, ДНК-полиморфизм, микросателлиты.

Для цитирования: Коршунова, Л.Г. Оценка консолидированности отечественных пород кур на основе микросателлитного анализа ДНК / Л.Г. Коршунова, Р.В. Карапетян, Е.А. Гладырь // Птицеводство. – 2023. – №5. – С. 22-26.

doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-5-22-26

Введение. Для дальнейшего развития отечественного птицеводства необходима селекция, основанная на достоверной информации о породной принадлежности птицы. Знание по породному составу популяции необходимо в различных случаях, например, при создании кроссов [1]. На основе породной структуры и оценки гетерозиготности принимаются решения для программ межпородного скрещивания. Классическая селекция, с использованием «традиционного» зоотехнического учета, зачастую не позволяет отбирать желательные генотипы и отбраковывать особей с непродуктивными аллелями. Поэтому, в дополнение к традиционным методам, необходимы новые методы, основанные на знаниях молекулярной генетики. В связи с этим одной из актуальных задач сельскохозяйственной генетики

является подбор ДНК-маркеров для полилокусного генотипирования с целью контроля консолидированности генофонда сельскохозяйственной птицы. Развитие ДНК-технологий во многом изменило методологию селекции животных, что привело к формированию маркер-ассоциированной селекции (marker assisted selection, MAS), основанной непосредственно на анализе генотипа. MAS-селекция особенно важна для признаков, проявляющихся с возрастом или связанных с полом животного. MAS уже стал рутинным инструментом, позволяющим получить значения продуктивности птицы, характерные для мономорфности по набору генов-кандидатов. С помощью ДНК-маркеров стало возможным картирование хромосом с целью выявления главных генов количественных признаков. Поиск локусов количественных призна-

ков (quantitative trait loci, QTL), т.е. областей ДНК, содержащих гены, либо сцепленные с ними участки, оказывающие значимый эффект на выраженность количественного признака, начался более 25 лет назад. Он последовательно развивался путем увеличения плотности ДНК-маркеров на хромосомах изначально на уровне микросателлитных локусов, а затем с использованием множества мононуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms, SNP). Для улучшения результативности геномного сканирования к SNP добавляются CNV-маркеры (copy number variability), основанные на полиморфизме по копиям коротких участков ДНК (менее 400 пар нуклеотидов) и их геномного распределения. У различных пород кур с помощью генотипирования SNP был изучен полиморфизм большого числа генов, таких как



генов пролактина (*PRL*), рецептора фолликулостимулирующего гормона (*FSHR*), не-SMC субъединицы CAP-G комплекса конденсина I (*NCAPG*), лигандзависимого ядерного рецептора, подобного корепрессору (*LCORL*), рецептора фактора роста 14 (*GRB14*) и др., для выявления их эффектов на показатели продуктивности. Большая часть SNP находится в некодирующих областях генома и не имеет прямого влияния на фенотип. Однако некоторые SNP, которые располагаются в экспрессируемых областях, могут влиять на экспрессию генов и индуцировать изменения в структуре белка. В результате секвенирования геномов животных стало доступным огромное количество информации об имеющейся в них генетической вариации. Благодаря совершенствованию технологий полногеномного генотипирования и накоплению информации в биобанках геномная селекция может обеспечить дополнительный генетический прирост по хозяйственно-полезным признакам у птицы. Именно с помощью молекулярно-генетических методов исследования генофондов можно будет получить научное обоснование для сохранения той или иной породы, так как появится возможность определить ее генетическую ценность и потенциал. Внедряя в практику ДНК-маркеры, становится возможным проводить точную идентификацию генотипов животных, имеющих желательные фенотипические особенности, на их основе проводить селекцию, и, таким образом, рациональнее использовать генетический потенциал сельскохозяйственных животных.

В последнее время в отечественной науке все большее внимание

уделяется изучению и сохранению генетического разнообразия сельскохозяйственной птицы. Наиболее быстрой и рентабельной оценкой генетического разнообразия является генотипирование полиморфных участков ДНК одновременно по многим локусам. Высокополиморфный характер, менделевский тип наследования и продемонстрированная возможность использования микросателлитов (МС) в популяционно-генетических исследованиях делает их удобными ДНК-маркерами для анализа генома животных, в том числе сельскохозяйственных птиц. Высокий полиморфизм позволяет использовать их при оценке генетической изменчивости, определении происхождения и установлении филогенетических связей. Анализ полиморфизма МС позволяет более точно оценить различия между породами. Определение генетической принадлежности особи к популяции на основании анализа по МС показывает, насколько далеко друг от друга находится каждая из породных групп. Современные методы с использованием МС нашли применение при детальном изучении отечественного генофонда домашних кур и генетического ресурса пород.

Генофонд – это совокупность всех генов скрещиваемой популяции; термин был введен А.С. Серебровским в 1928 г. Генетические ресурсы – это генетическое разнообразие, сохраняющееся внутри вида, включая разнообразие на уровне ДНК [2]. Генофондные породы кур во всем мире рассматриваются как источник ценных генов, поэтому сохранение пород, породных групп и резервных линий актуально для создания новых родительских форм и кроссов.

Для совершенствования породной птицы по стандарту ведется работа на предприятиях ООО «Генофонд» и СГЦ «Загорское ЭПХ» на курах отечественных пород, сохраняемых в коллекции. Проводится генетическое маркирование отличительными признаками и консолидация пород по геномодификаторам. Использование различных ДНК-маркеров в генетике генофондных пород кур дает возможность получить расширенные данные о генетическом потенциале породы, что чрезвычайно важно для обоснования ее сохранения.

С использованием микросателлитных панелей ранее была проведена ДНК-идентификация и дана оценка степени полиморфизма и генетического разнообразия следующих пород кур генофондного стада: юрловская голосистая, загорская лососевая, амрок, первомайская, адлерская серебристая, род-айланд, московская черная и белая, кохинхин черный и голубой, виандот, орпингтон, гамбургские, итальянская куропатчатая, плимутрок полосатый, нью-гемпшир, русская белая, малайская бойцовая, орловская ситцевая, ленинградская белая и ситцевая, панциревская белая и черная, полтавская глинистая, котляровская, кучинская, суссекс по микросателлитным локусам [3-5]. Все МС были полиморфными. Исследуемые породы кур имели высокие генетические показатели разнообразия. Проведенная оценка характера изменчивости аллелофонда МС показала, что разнообразие аллельных профилей по МС обеспечивается, главным образом, внутривидовыми различиями (51% в общей изменчивости, в том числе различия



Таблица 1. Показатели генетической изменчивости и информативности в породах кур панциревская черная, московская черная, русская хохлатая, адлерская серебристая

Порода		N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
ПНЦ_Ч	Mean	26,000	7,286	3,914	1,520	0,647	0,710	0,724	0,081
	SE		0,474	0,459	0,115	0,058	0,052	0,053	0,061
МОС	Mean	29,000	8,143	4,020	1,586	0,654	0,725	0,738	0,088
	SE		0,705	0,589	0,119	0,049	0,031	0,032	0,079
РУС_Х	Mean	30,000	7,000	4,343	1,602	0,653	0,764	0,777	0,143
	SE		0,309	0,267	0,056	0,037	0,017	0,017	0,046
АДЛ_С	Mean	24,000	6,000	2,984	1,308	0,608	0,654	0,668	0,071
	SE		0,845	0,215	0,105	0,042	0,027	0,027	0,048

Примечание: Na – среднее число выявленных аллелей, Ne – число эффективных аллелей, Ho – фактическая гетерозиготность, He – ожидаемая гетерозиготность, I – индекс Шеннона. Mean – средняя величина; SE – стандартная ошибка средней.

между индивидуумами – 42%, внутри индивидуумов – 36%), в то время как на межпопуляционные различия приходится 22% [3]. Анализ, проведенный по 8 МС-локусам [4], показал высокую идентичность особей (100%) в 4 породах: ленинградская белая, московская белая, юрловская голосистая, кучинская; в 7 породах (суссекс, котляровская, плимутрок полосатый, нью-гемпшир, ленинградская белая, панциревская белая и род-айланд) принадлежность к породе колебалась от 86,7 до 96,7%. Наименее генетически консолидированными, по результатам использования одной панели МС, оказались куры породы панциревская черная (50,0%). При использовании 16 МС-маркеров [3,4] наибольшая идентичность особей отмечена у пород: ленинградская белая и ситцевая, московская белая, котляровская, кучинская, суссекс, плимутрок полосатый, нью-гемпшир загорская лососевая. На основании анализа генотипа по МС их принадлежность к породе была определена в 100% случаев. Высокой консолидированностью характеризовались также две

Таблица 2. Генетические дистанции между породами, оцененные по Nei (под диагональю, отмеченной звездочками) и по Fst (над диагональю)

Nei \ Fst	ПНЦ_Ч	МОС_Ч	РУС_Х	АДЛ_С
ПНЦ_Ч	*	0,367	0,286	0,251
МОС_Ч	0,061	*	0,223	0,519
РУС_Х	0,051	0,039	*	0,314
АДЛ_С	0,060	0,087	0,061	*

другие породные группы: юрловская голосистая и русская хохлатая (96,7%). Высокая консолидированность отмечена и в остальных породах кур (от 80,0 до 96,7%), что свидетельствует о высокой степени типичности каждой особи внутри группы. Среднее значение оценки породной принадлежности кур при использовании 8 локусов достигало 89,0%, в варианте с 2 панелями (16 локусов) – 96,0% [4].

Материал и методика исследований. Нами дана оценка генетической консолидированности и определена степень генетического сходства 4 российских пород кур: панциревская черная (ПНЦ_Ч), московская черная (МОС_Ч), русская хохлатая (РУС_Х), адлерская серебристая (АДЛ_С) по МС с использованием мульти-

локусной системы анализа, включающей 7 МС-локусов – LEI0094, MCW0067, MCW0069, MCW0081, MCW0111, MCW0123, MCW0183. Для этого была проведена ПЦР-амплификация образцов ДНК крови кур с последующим анализом продукта мультиплексной ПЦР по методике ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста [5]. Для оценки генетической изменчивости в изучаемых породах кур был выполнен расчет наблюдаемой и ожидаемой степеней гетерозиготности. Как известно, этот показатель гетерозиготности является отображением мутационных процессов, дрейфа генов, различных типов отбора и других факторов динамики популяций.

Результаты исследований и их обсуждение. Для сохране-

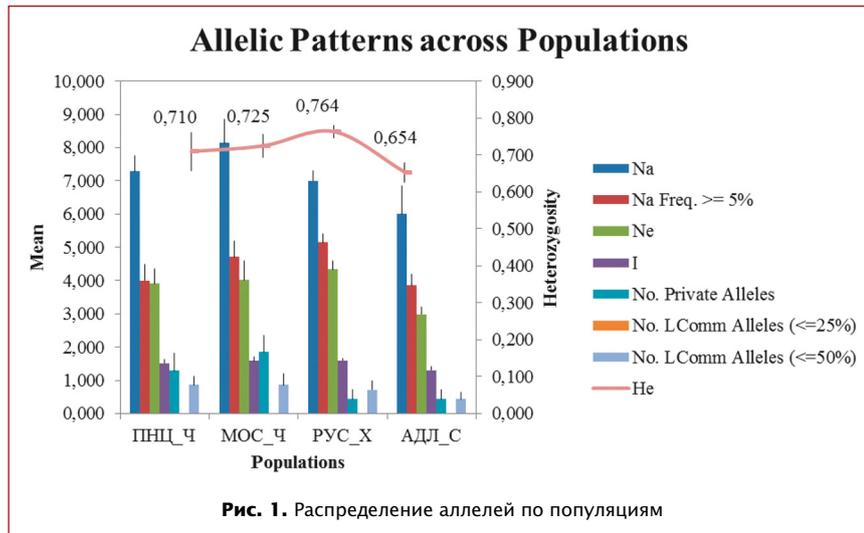


Рис. 1. Распределение аллелей по популяциям

ния генетического внутривидового разнообразия большой интерес представляет среднее число аллелей по исследованным МС-маркерам в конкретной породе. В среднем число аллелей на локус составило от $6,000 \pm 0,845$ у АДЛ_С, до $8,143 \pm 0,705$ у МОС_Ч. Результаты анализа аллельного разнообразия и уровней гетерозиготности обобщены в табл. 1. Фактическая степень гетерозиготности варьировала от 61% у породы кур АДЛ_С до 66% у МОС_Ч.

Оценка генетической удаленности пород, рассчитанная по N_{ei} , представлена в табл. 2. Минимальные генетические различия

были выявлены между породами РУС_Х и МОС_Ч (0,039), РУС_Х и ПНЦ_Ч (0,051). Относительно близкими родственными связями характеризовались пары пород МОС_Ч – ПНЦ_Ч (0,061), АДЛ_С – ПНЦ_Ч (0,060), АДЛ_С – РУС_Х (0,061). Наибольшие генетические различия наблюдались между породами АДЛ_С и МОС_Ч (0,087). Индекс F_{st} служит критерием генетических различий между популяциями. Его значения лежат между 0 (в случае отсутствия генетических различий между популяциями) и 1 (обозначает фиксацию определенных аллелей в соответствующих популяциях).

У изученных пород значения индекса F_{st} варьировали от 0,223 до 0,519 (табл. 2).

Анализ генетической консолидированности пород кур, основанный на аллельном разнообразии, уровне гетерозиготности и генетических дистанциях, показал высокую степень консолидированности изученных пород (рис. 1).

Данные, полученные при молекулярно-генетическом анализе, расширяют возможности для управления, сохранения, использования генетических ресурсов, и также отслеживания изменений в молекулярной организации геномов популяций. ДНК-идентификация наряду с фенотипом, аллелями структурных генов позволяет дифференцировать породы, что чрезвычайно важно при сохранении породы как резерва определенных наследуемых признаков, а также при регистрации новых пород. Проведенный в данной работе анализ 4 изученных пород кур показал высокую степень их консолидированности.

Статья подготовлена в соответствии с тематическим планом ФНЦ «ВНИТИП» РАН, № гос. рег. 121030100023-5.

Литература

1. Ефимов, Д.Н. Селекция птицы исходных линий породы плимутрок (*Gallus gallus* L.) с использованием маркерных генов к и к / Д.Н. Ефимов, Ж.В. Емануилова, Е.В. Журавлева, А.В. Егорова, В.И. Фисинин // С.-х. биология. - 2018. - Т. 53. - №6. - С. 1162-1168.
2. Столповский, Ю.А. Популяционно-генетические основы сохранения генофондов domesticированных видов животных / Ю.А. Столповский // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2013. - Т. 17. - №4-2. - С. 900-915.
3. Новгородова, И.П. Характеристика аллелофонда кур с использованием микросателлитов / И.П. Новгородова, Н.А. Зиновьева, В.И. Фисинин // Птицеводство. - 2015. - №11. - С. 13-19.
4. Новгородова, И.П. Идентификация породной принадлежности кур на основе микросателлитного анализа / И.П. Новгородова, Е.А. Гладырь, В.И. Фисинин, Н.А. Зиновьева // Достижения науки и техники АПК. - 2015. - Т. 29. - №11. - С. 88-90.
5. Коршунова, Л.Г. Генетическая и фенотипическая характеристика четырех отечественных пород кур / Л.Г. Коршунова, Е.А. Гладырь, А.А. Севастьянова, Р.В. Карапетян // Птицеводство. - 2020. - №12. - С. 4-8.

Сведения об авторах:

Коршунова Л.Г.: доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела генетики и селекции; lg@vnitip.ru. **Карапетын Р.В.:** кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, зав. лабораторией молекулярной генетики, биотехнологии и искусственного осеменения; ruben@vnitip.ru.

Гладырь Е.А.: кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник – зав. лабораторией молекулярной генетики сельскохозяйственных животных; elenagladyr@mail.ru.

Статья поступила в редакцию 09.03.2023; одобрена после рецензирования 02.04.2023; принята к публикации 16.04.2023.

Research article

**Degree of Genetic Consolidation in Four Russian Chicken Breeds as Revealed
by the Microsatellite DNA Analysis**



Liudmila G. Korshunova¹, Ruben V. Karapetyan¹, Elena A. Gladyr²

¹Federal Scientific Center “All-Russian Research and Technological Institute of Poultry” of Russian Academy of Sciences; ²Federal Research Center of Animal Husbandry – VIZH named after Academician L.K. Ernst

Abstract. A brief analysis of modern approaches to genetic breed attribution in animals and poultry is presented; the molecular genetic methods of the analysis of DNA polymorphism for the assessment of genetic significance of breeds and reasonability of their conservation are highlighted. The experimental assessment of the degree of genetic consolidation in four Russian chicken gene pool breeds (Pantsyrevskaya Black, Moscow Black, Russian Crested, Adler Silvery) using a 7-loci microsatellite panel was performed; high degree of consolidation in all breeds was found.

Keywords: chicken, consolidation of breed, DNA polymorphism, microsatellites.

For Citation: Korshunova L.G., Karapetyan R.V., Gladyr E.A. (2023) Degree of genetic consolidation in four Russian chicken breeds as revealed by the microsatellite DNA analysis. *Ptitsevodstvo*, 72(5): 22-26. (in Russ.)
doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-5-22-26

References

1. Efimov DN, Emanuylova ZV, Zhuravleva EV, Egorova AV, Fisinin VI (2018) *Agric. Biol.*, **53**(6):1162-8; doi 10.15389/agrobiology.2018.6.1162rus (in Russ.).
2. Stolpovsky YA (2013) Population genetics studies underlying preservation of domesticated animal species gene pools. *Vavilov J. Genet. Select.*, **17**(4-2):900-15 (in Russ.).
3. Novgorodova IP, Zinovieva NA, Fisinin VI (2015) The characterization of allelic pool in chicken using microsatellites. *Ptitsevodstvo*, (11):13-9 (in Russ.).
4. Novgorodova IP, Gladyr EA, Fisinin VI, Zinovieva NA (2015) Identification of chicken breeds on the basis of microsatellite analysis. *Achiev. Sci. Techn. Agric.*, **29**(11):88-90 (in Russ.).
5. Korshunova LG, Gladyr EA, Sevastyanova AA, Karapetyan RV (2020) *Ptitsevodstvo*, (12):4-8; doi 10.33845/0033-3239-2020-69-12-4-8 (in Russ.).

Authors:

Korshunova L.G.: Dr. of Biol. Sci., Chief Research Officer, Dept. of Genetics and Selection; lg@vnitip.ru.

Karapetyan R.V.: Cand. of Biol. Sci., Senior Research Officer, Head of Lab. of Molecular Genetics, Biotechnology and Artificial Insemination; ruben@vnitip.ru. **Gladyr E.A.:** Cand. of Biol. Sci., Lead Research Officer, Head of Lab. of Molecular Genetics of Agricultural Animals; elenagladyr@mail.ru.

Submitted 09.03.2023; revised 02.04.2023; accepted 16.04.2023.

© Коршунова Л.Г., Карапетын Р.В., Гладырь Е.А., 2023