

УДК 636.5:577.21

## ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦІЇ КУРЕЙ ЛІНІЇ 02 ПОРОДИ РОД-АЙЛЕНД ЧЕРВОНИЙ ЗА ПОЛІМОРФІЗМОМ МІКРОСАТЕЛІТНОЇ ДНК

**Кулібаба Р.О.** – к.с.-г.н., старший науковий співробітник, завідувач лабораторії молекулярно-генетичних і фізіолого-біохімічних досліджень у тваринництві, Інститут тваринництва Національної академії аграрних наук України

Проведено аналіз генетичної структури популяції курей лінії 02 породи род-айленд червоний із використанням восьми мікросателітних локусів. За всіма локусами виявлено 29 алелів (у середньому 3,6 алеля на локус). За значенням показника інформаційного поліморфізму загальна кількість високоінформативних маркерів склала 50% ( $PIC > 0,5$ ). З'ясовано, що за значеннями основних показників гетерозиготності дослідна популяція курей перебуває в стані генетичної рівноваги. Під час порівняння з лінією 38 курей породи род-айленд червоний за значенням показника  $F_{st}$  виявлено, що 2,7% загальної генетичної мінливості припадає на міжлінійний складник та 97,3% – на внутрішньолінійний (незначна дивергенція дослідних ліній курей).

**Ключові слова:** кури, лінія, популяція, поліморфізм, локус, мікросателіти, алель.

### **Кулибаба Р.А. Генетическая структура популяции кур линии 02 породы род-айленд красный по полиморфизму микросателлитной ДНК**

Проведен анализ генетической структуры популяции кур линии 02 породы род-айленд красный по восьми микросателлитным локусам. По всем изученным локусам выявлено 29 аллелей (в среднем 3,6 аллеля на локус). По значению показателя информационного полиморфизма общее количество высокоинформативных маркеров составило 50% ( $PIC > 0,5$ ). Показано, что по значениям основных показателей гетерозиготности опытная популяция кур находится в равновесном состоянии. При сравнении с линией 38 кур породы род-айленд красный по значению показателя  $F_{st}$  выявлено, что 2,7% общей генетической изменчивости по всем локусам обусловлено межлинейными различиями и 97,3% приходится на внутрелинейную составляющую (слабая дивергенция опытных линий кур).

**Ключевые слова:** куры, линия, популяция, полиморфизм, локус, микросателлиты, алель.

### **Kulibaba R.O. The population genetic structure of line 02 of Rhode Island Red chicken breed by microsatellite DNA polymorphism**

The population genetic structure analysis of line 02 of Rod Island Red chicken breed by eight microsatellite loci was conducted. For all loci 29 alleles were detected (average 3.6 alleles per locus). By the value of the polymorphism information content the total number of highly informative markers was 50% ( $PIC > 0,5$ ). It was shown that the chicken experimental population is in the equilibrium state by the values of the main heterozygosity indices. When compared with line 38 of Rhode Island Red chicken breed by  $F_{st}$  value it was revealed that 2,7% of the total genetic variability in all loci is due to among-linear differences and 97,3% is due to the within-linear component (weak divergence of the experimental chicken lines).

**Key words:** chickens, line, population, polymorphism, locus, microsatellites, allele.

**Постановка проблеми.** Вивчення генетико-популяційних характеристик дослідних ліній та порід сільськогосподарської птиці відноситься до однієї з актуальних задач сучасного птахівництва. Для проведення досліджень у напрямі паспортизації дослідних порід, ліній та субпопуляцій, контролю походження особин, перевірки чистопорідності ліній широко використовуються різні типи молекулярно-генетичних маркерів, що дозволяють аналізувати особливості

генетичної структури безпосередньо на рівні ДНК [1, с. 1044]. До одного із найрозповсюдженіших типів молекулярно-генетичних маркерів, що використовуються для вирішення зазначених задач, відносяться мікросателіти [2, с. 1]. Мікросателіти (**S**imple **S**equence **R**epeats, SSR) являють собою короткі тандемні повтори із декількох (як правило, від 2 до 6) нуклеотидів у певній послідовності, що широко розповсюджені по всьому геному [3, с. 121]. Завдяки високому рівню поліморфізму, порівняно з іншими типами молекулярно-генетичних маркерів, мікросателіти стали одними із найточніших інструментів у питаннях паспортизації та контролю походження у різних галузях тваринництва.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Сфера застосування мікросателітних маркерів дуже велика й охоплює дослідження найрізноманітніших видів рослин та тварин [4, с. 163; 5, с. 2; 6, с. 309.]. При цьому мікросателітні маркери активно використовують і для вирішення різних задач у птахівництві [7, с. 145]. Якщо не брати до уваги нечисленні дослідження щодо пошуку зв'язку мікросателітів з показниками продуктивності птиці, основними напрямками їх використання у птахівництві є генетико-популяційна характеристика дослідних груп, філогенетичний аналіз, генетична диференціація популяцій, контроль за проведенням селекційної роботи, ідентифікація та паспортизація різних порід та ліній.

**Постановка завдання.** Мета досліджень – вивчення генетичної структури популяції курей лінії 02 породи род-айленд червоний за поліморфізмом мікросателітної ДНК.

Дослідження проводили у лабораторії профілактики захворювань птиці та молекулярної діагностики Державної дослідної станції птахівництва НААН, а також у лабораторії молекулярно-генетичних і фізіолого-біохімічних досліджень у тваринництві Інституту тваринництва НААН.

Для проведення досліджень було використано породу курей яєчно-м'ясного напрямку продуктивності – род-айленд червоний (лінія 02). Для порівняльного аналізу використовували результати проведених раніше досліджень на дослідній популяції курей породи род-айленд червоний лінії 38 (дані у друці).

Дослідні лінії курей утримувались в умовах ферми «Збереження державного генофонду Державної дослідної станції птахівництва НААН» (2015 рік).

В якості джерела біологічного матеріалу використовували перо птиці. Виділення ДНК із дослідних зразків проводили із використанням комерційного набору реагентів «ДНК-сорб-В» («АмпліСенс», Росія).

Для проведення ампліфікації використовували олігонуклеотиди, які відносяться до рекомендованих ISAG-FAO для проведення типування ліній та порід курей [8, с. 84]:

LEI0094 (хромосома 4) – gatctcaccagtgatgagctgc; tctcacactgtaacacagtgс;

LEI0166 (хромосома 3) – tatcccctggctgggagttt;ctcctgсccttagctacgca;

ADL0268 (хромосома 1) –ctccaccctctcagaacta;caacttccatctactact;

ADL0278 (хромосома 8) – ccagcagtgctacttctat; tgtcatccaagaacagtggt;

MCW0034 (хромосома 2) – tgccttccaattacattcatggg;tgcacgсacttactacttagaga;

MCW0081 (хромосома 5) – gttgctgagagcctgggtcag; cctgtatgtggaattactctc;

MCW0104 (хромосома 13) – tagcacaactcaagctgtgag; agacttgсacagctgtgacc;

MCW0123 (хромосома 14) – ccactagaaaagaacatcctc; ggctgatgtaagaaggatga.

Ампліфікацію проводили із використанням відповідних програм: 1 цикл – денатурація 94°C 3 хв.; 35 циклів – денатурація 94°C 45 с, відпал 45 с, (60°C для

всіх локусів), елонгація 72°C 45 с; 1 цикл – фінальна елонгація 72°C 10 хв. Об'єм кінцевої суміші склав 20  $\mu$ L, концентрація праймерів – 0,2 мкМ у кожному випадку.

Продукти ампліфікації розділяли у поліакриламідних гелях різних концентрацій (4–8%) як нативних, так і денатуруючих. Візуалізацію проводили із використанням бромистого етидію в ультрафіолетовому спектрі. Розмір ампліфікаційних фрагментів визначали із використанням маркерів молекулярних мас M-12, M-20, M-50, M-100 (Ізоген, Росія).

Генотипування за кожним із локусів проводили за допомогою аналізу отриманих електрофореграм.

На основі отриманих даних розраховували фактичний (O) та теоретичний розподіл генотипів (E), частоти генотипів і алелів, фактичну ( $H_o$ ) й очікувану ( $H_e$ ) гетерозиготність відповідно до загальних методик [9, с. 167]. Із використанням програми PIC calculator (<https://www.liverpool.ac.uk/~kempsj/pic.html>) розраховували значення інформативної цінності поліморфних маркерів (PIC, Polymorphism Information Content) [10, с. 265]. F-статистики Райта (індекси фіксації) розраховували із використанням відповідних методик та визначали за допомогою програми GenAEx 6.5b4 (<http://biology.anu.edu.au/GenAEx/Download.html>) [11, с. 253; 12, с. 86; 13, с. 85]. Філогенетичний аналіз субпопуляцій проводили із використанням пакета програм PHYLIP 3.69 (<http://evolution.gs.washington.edu/phylip/getme.html>) та MEGA 7.0.26 ([http://www.megasoftware.net/download\\_form](http://www.megasoftware.net/download_form)).

**Виклад основного матеріалу дослідження.** Із використанням восьми мікросателітних маркерів LEI0094, MCW0034, ADL0278, ADL0268, MCW0081, LEI0166, MCW0104 та MCW0123 провели порівняльний аналіз генетичної структури популяцій курей лінії 02 та 38 породи род-айленд червоний.

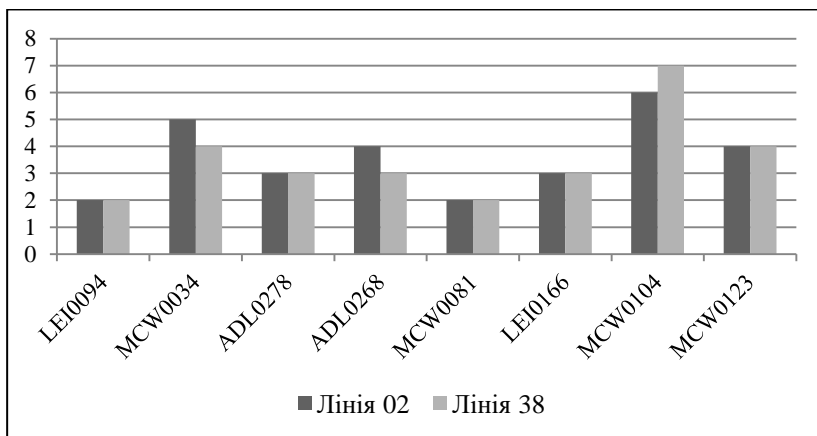


Рис. 1. Співвідношення кількості алелів за вивченими мікросателітними локусами у популяції курей лінії 02 породи род-айленд червоний

За кількістю алелів на локус лінії, що порівнюються, у цілому дуже схожі. Для лінії 02 визначено 29 алелів за сукупністю маркерів, для лінії 38 – 28.

Мінімальна кількість алелів на локус для обох ліній показано для LEI094 (2) та MCW081 (2); максимальна – для MCW104 (6 для лінії 02 та 7 для лінії 38) (рис. 1).

За значеннями показника інформаційного поліморфізму (PIC) у дослідній лінії курей (лінія 02) загальна кількість високоінформативних маркерів склала ~ 50% від загальної кількості. Таким чином, до високоінформативних маркерів відносяться ADL0268 (0,67), MCW0034 (0,63), MCW0104 (0,71) та MCW0123 (0,63).

За співвідношенням очікуваної ( $H_e$ ) та фактичної ( $H_o$ ) гетерозиготності дослідна лінія курей досить «вирівняна» (рис. 2). Показник  $F_{is}$  приймає негативне значення в локусах LEI094 (-0,05), LEI166 (-0,05) та MCW034 (-0,07). У локусах MCW0081, MCW0104 та MCW0123 відзначено надлишок гомозигот (0,25; 0,09 та 0,15 відповідно). Однак вірогідними можна вважати відхилення від рівноважного стану лише для локусів MCW034, ADL0268 та LEI166.

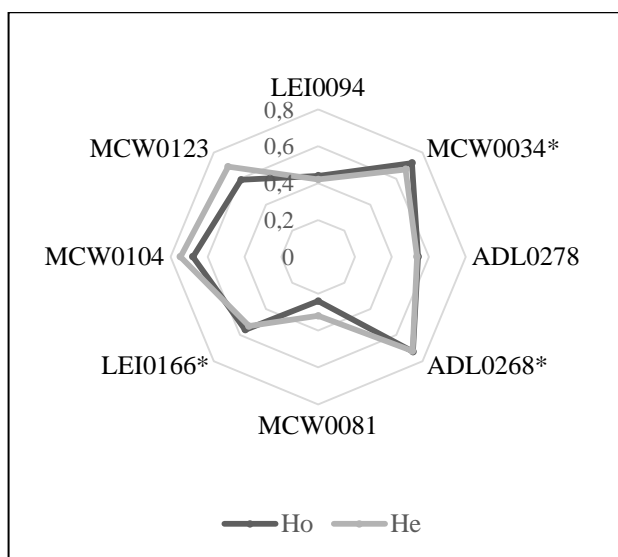


Рис. 2. Показники очікуваної ( $H_e$ ) та фактичної ( $H_o$ ) гетерозиготності в лінії 02 породи род-айленд червоний

\* – достовірність відмінностей між показниками,  $p_{\chi^2} < 0,05$

Середнє значення показника  $F_{is}$  склало 0,04, що вказує на рівноважний стан дослідної лінії, а також свідчить про відсутність впливу основних мікроеволюційних факторів на зміну частот алелів, що пов'язані із селекційно-плеємінною роботою (розведення в собі). Середні значення показників очікуваної та фактичної гетерозиготності практично співпадають. Своєю чергою, по лінії 38 середнє значення  $F_{is}$  склало -0,026, що також вказує на рівноважний стан популяції. Достовірне відхилення від рівноважного стану в лінії 38 породи род-айленд червоний виявлено тільки для локусу MCW0104 ( $F_{is} = -0,194$ ). За всіма іншими локусами відхилення від рівноважного стану неістотні.

Під час порівняння з лінією 38 значення показника  $F_{st}$  становило 0,027, тобто, тільки 2,7% загальної генетичної мінливості за всіма локусами обумовлено міжлінійними відмінностями та 97,3% припадає на внутрিলінійний складник. Значення  $F_{st}$  вказує на слабку дивергенцію (менше порогового значення в 0,05) між лініями 02 та 38 породи род-айленд червоний.

На незначний ступінь генетичної диференціації дослідних ліній вказує також і значення генетичної дистанції за  $Nei$ . Так, значення генетичної дистанції між лініями 02 та 38 дорівнює 0,079, водночас значення генетичної схожості (подібності) – 0,924. Таким чином, між лініями спостерігається 7,9% відмінностей, виявлених за особливостями розподілу алельних частот поліморфних мікросателітних локусів. Варто зазначити, що серед усіх вивчених ліній курей різних порід генетичні дистанції між лініями 02 та 38 – мінімальні.

**Висновки.** За результатами проведених досліджень у дослідній популяції курей за всіма локусами виявлено 29 алелів (у середньому 3,6 алеля на локус). За значенням показника інформаційного поліморфізму загальна кількість високоінформативних маркерів склала 50% ( $PIC > 0,5$ ). За співвідношенням показників очікуваної та фактичної гетерозиготності популяція курей лінії 02 породи род-айленд червоний перебуває у рівноважному стані (виражені формоутворюючі процеси відсутні). Під час порівняння з лінією 38 за значенням показника  $F_{st}$  виявлено, що тільки 2,7% загальної генетичної мінливості за всіма локусами обумовлено міжлінійними відмінностями та 97,3% припадає на внутрішньолінійний складник (слабка дивергенція дослідних ліній курей).

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Khlestkina E.K. Molecular markers in genetic studies and breeding. *Russ. J. Genetics*. 2014. Vol. 4 (3). P. 236–244.
2. Senan S., Kizhakayil D., Sasikumar B., Sheeja T.E. Methods for development of microsatellite markers: an overview. *Not Sci Biol*. 2014. Vol. 6 (1) P. 1–13.
3. Al-Samari F.R., Al-Kazaz A.A. Molecular Markers: an Introduction and Applications. *European Journal of Molecular Biotechnology*. 2015. Vol. 9 (3). P. 118–130.
4. Smith J. S. C., Chin E. C. L., Shu H. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPS and pedigree. *Theor Appl Genet*. 1997. Vol. 95. P. 163–173.
5. Chistiakov D.A., Helleman B., Volckaert F.A. M. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: a review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*. 2006. Vol. 255. P. 1–29.
6. Kalia R.K., Rai M.K., Kalia S., Singh R., Dhawan A.K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*. 2011. Vol. 177. P. 309–334.
7. Gholizadeh M., Mianji G.R. Use of microsatellite markers in poultry research. *International Journal of Poultry Science*. 2007. Vol. 6 (2). P. 145–153
8. FAO, 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. Food and Agriculture Organization of the United Nations Publ., Rome, Italy. 100 p.
9. Меркурьева Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве. М.: Колос, 1977. 240 с.

10. Shete S., Tiwari H., Elston R.C. On Estimating the Heterozygosity and Polymorphism Information Content Value. *Theoretical Population Biology*. 2000. Vol. 57. P. 265–271.
11. Nei M., Chesser R.K. Estimation of fixation indices and gene diversities. *Ann. Hum. Genet.* 1983. Vol. 47. P. 253–259.
12. Кузнецов В.М. F-статистики райта: оценка и интерпретация. *Научно-теоретический журнал «Проблемы биологии продуктивных животных»*. 2014. № 4. С. 80–104.
13. Wright S. Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations. Univ. Chicago, 1978. 590 p.

УДК 636.4.082

## «ГЕПАСОРБЕКС» – ВИРІШЕННЯ ПРОБЛЕМИ МІКОТОКСИНІВ У ПРОМИСЛОВОМУ СВИНАРСТВІ

**Лихач В.Я.** – д.с.-г.н., доцент, в.о. завідувача  
кафедри технології виробництва продукції тваринництва,  
Миколаївський національний аграрний університет  
**Лихач А.В.** – к.с.-г.н., доцент, доцент кафедри генетики,  
годівлі тварин та біотехнології,  
Миколаївський національний аграрний університет  
**Фаустов Р.В.** – аспірант кафедри технології  
виробництва продукції тваринництва,  
Миколаївський національний аграрний університет  
**Леньков Л.Г.** – к.с.-г.н., консультант із тваринництва,  
ТОВ «ВетСервісПродукт»

Контроль за вмістом мікотоксинів у кормах і своєчасне усунення їх негативного впливу – необхідні заходи для забезпечення безпеки здоров'я тварин і особливо споживачів тваринницької продукції. Основний спосіб видалення мікотоксинів із кормів – нейтралізація за допомогою сорбентів. Метою досліджень було визначення ефективності використання в раціонах годівлі молодняку на відгодівлі різних доз сорбенту мікотоксинів «Гепасорбекс» виробництва фірми «ВетСервісПродукт» у комбікормах, контамінованих мікотоксинами. Дослідження були проведені в умовах ТОВ «Таврійські свині» міста Скадовськ Херсонської області на поголів'ї помісного молодняку свиней. За результатами досліджень встановлено, що уведення до складу комбікормів для відгодівельного молодняку (контамінованих мікотоксинами) сорбенту «Гепасорбекс» у дозі 1,0 і 1,5% сприяє зменшенню періоду відгодівлі до 100 кг на 9–12,3 днів ( $P > 0,999$ ) та збільшенню середньодобових приростів на 11–13,6% ( $P > 0,999$ ) відповідно.

**Ключові слова:** мікотоксини, комбікорми, сорбент мікотоксинів, молодняк свиней, відгодівельні ознаки.

**Лихач В.Я., Лихач А.В., Фаустов Р.В., Леньков Л.Г. «Гепасорбекс» – решение проблемы микотоксинов в промышленном свиноводстве**

Контроль содержания микотоксинов в кормах и своевременное устранение их негативного воздействия – необходимые меры для обеспечения безопасности здоровья животных и особенно потребителей животноводческой продукции. Основной способ удаления микотоксинов из кормов – нейтрализация с помощью сорбентов. Целью исследований было определение эффективности использования в рационах кормления молодняку на откорме