

prepared from vegetative mass of genetically modified and common maize from farms of Kharkiv region. It was found that built-in gene constructs, causing the emergence of principally new kind of traits in the race do not affect the number of such essential trace elements in the silo. Little differences observed in quantitative composition were random and statistically insignificant.

Key words: GMO, genetic constructs, recombinant DNA, mineral composition, maize



УДК 575.1:630.222.2.3

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОРОД *GALLUS GALLUS* L. С ПОМОЩЬЮ ДНК-ФИНГЕРПРИНТИНГА

**А.Л. ФИЛЕНКО¹, В.А. ВАСИЛЬЕВ¹, В.В. МИДЕЛАШВИЛИ¹,
И.Г. МОИСЕЕВА², А.А. СЕВАСТЬЯНОВА³, С.К. СЕМЕНОВА¹**

Институт биологии гена РАН (Москва, Россия)¹

Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН (Москва, Россия)²

*Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
птицеводства (Сергиев Посад, Россия)³*

trc2001@i.com.ua

Проведена генетическая дифференциация семи пород кур, разводимых на территории России и Украины с помощью мультилокусного геномного ДНК-фингерпринтинга (M13/Нае III). На основании наблюдаемой изменчивости минисателлитных маркеров с помощью парно-группового метода для невзвешенных средних (UPGMA) была построена дендрограмма генетического сходства. Показано, что все исследованные образцы формируют два надежных кластера, в один из которых объединяются майские, орловские ситцевые и юрловские голосистые куры. Вторую группу составляют все оставшиеся породы – полтавская глинистая, бурый леггорн, аппенцеллер и белохохлая голландская. Обсуждаются эффективность использования ДНК-маркеров разного типа для дифференциации пород кур, а также история происхождения изученных пород и возможные причины изменения их генетического разнообразия.

© А.Л. Филенко, В.А. Васильев, В.В. Миделашвили,
И.Г. Моисеева, А.А. Севастьянова, С.К. Семенова, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

Ключевые слова: ДНК-фингерпринтинг, минисателлиты, породы кур, генетическая дифференциация

Введение. Одной из актуальных проблем генетики сельскохозяйственных животных, и в том числе генетики домашней курицы, является изучение генетического полиморфизма и поиск геномных маркеров у различных пород. В настоящее время для изучения генетического разнообразия и паспортизации кур наряду с иммунологическими маркерами используют высокополиморфные ДНК (VNTR), а именно мини- и микросателлиты [12, 17]. С их помощью проведено генотипирование большого числа пород, разводимых в основном в разных странах Центральной и Западной Европы [10, 11, 18, 9]. Однако породы и породные разновидности кур России и Украины все еще изучены недостаточно. Имеется ряд публикаций, в которых проведена геномная паспортизация с помощью ДНК-фингерпринтинга небольшого числа пород [7, 8]. Единичные породы отечественной селекции генотипированы недавно и по микросателлитным маркерам [11].

В настоящей статье мы приводим данные сравнительного анализа генетической изменчивости нескольких пород кур, выведенных селекционерами России и Украины. Для генотипирования пород мы применили классический мультилокусный ДНК-фингерпринтинг с использованием в качестве зонда ДНК фага M13. Известно, что M13 минисателлиты широко представлены во всех эукариотических геномах. Они организованы в виде tandemных повторов и распределены по всем хромосомам с преимущественной локализацией в прицентромерных областях. Этот метод эффективен для решения многочисленных задач, связанных с оценкой генетического разнообразия, рационального использования и консервации генетических ресурсов, а также для выработки научно обоснованных рекомендаций по сохранению и воспроизводству редких и исчезающих видов животных [6]. Он издавна является незаменимым инструментом для оценки генетической изменчивости, установлении степени родства и широко используется для генетической паспортизации пород и линий домашних животных и птицы, в том числе кур [20]. Целью данной работы был анализ эффективности использования ДНК-маркеров разного типа для дифференциации пород кур, а также истории происхождения изученных пород и возможные причины изменения их генетического разнообразия.

Материал и методы исследований. Образцы венозной крови кур и петухов исследованных пород получены из двух экспериментальных хозяйств Всероссийского научно-исследовательского и технологического института птицеводства (ВНИИТИПе, г. Сергиев Посад, Московская область) и Всероссийского научно-исследовательского института разведения и генетики животных (ВНИИРГЖе животных, г. Пушкин, Ленинградская область).

Методы выделения ДНК, а также проведение классического фингерпринтинга с использованием в качестве зонда ДНК фага M13 и рестриктазы NaeIII детально описаны нами ранее [7]. Для описания внутривидовой изменчиво-

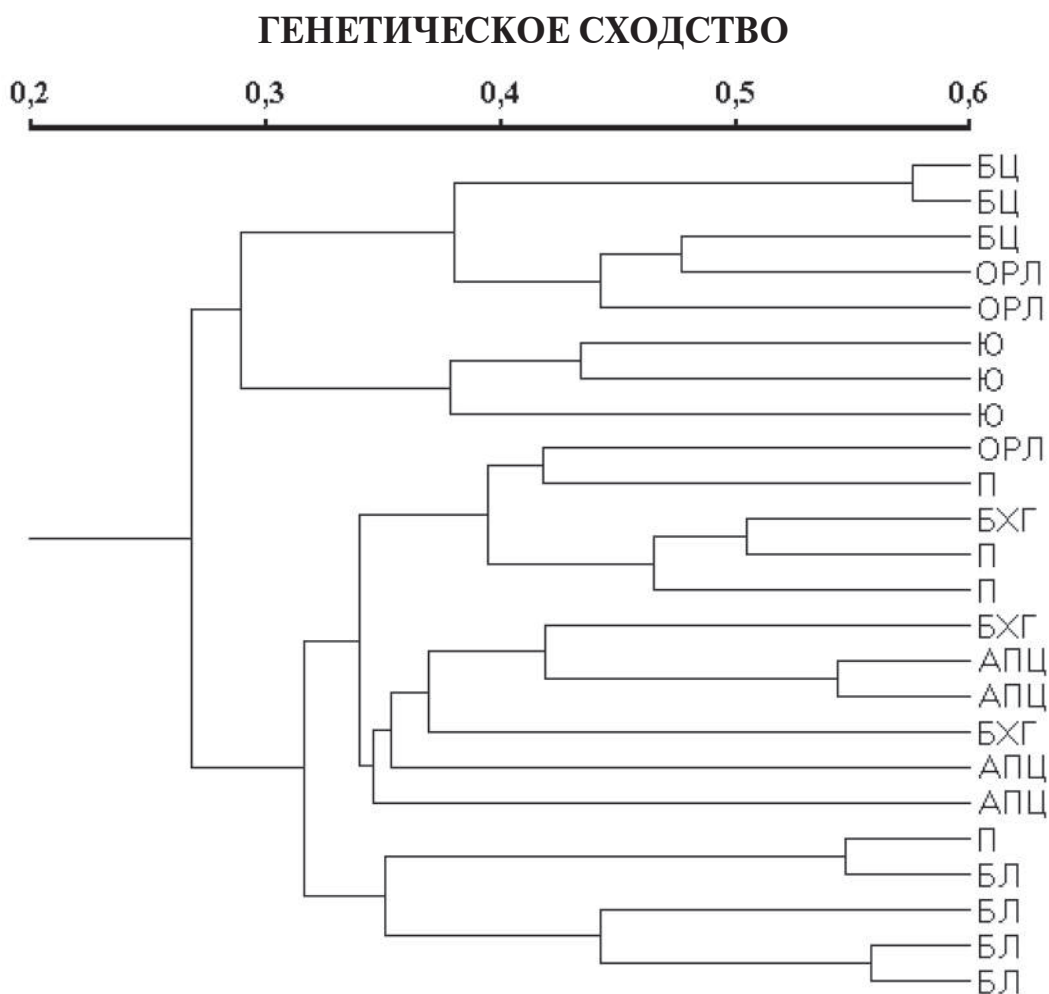
сти исследовали по 3–4 образца крови каждой из семи следующих пород: бойцовая малайская (БЦ), юрловская голосистая (Ю), орловская ситцевая (ОРЛ), полтавская глинистая (П), бурый леггорн (БЛ), белохохлая голландская (БХГ), аппенцеллер (АПЦ). Воспроизводимость результатов и калибровка гибридизационных фрагментов, выявляемых у 24 образцов ДНК, подтверждены в двух повторных экспериментах.

На основании электрофореграмм составляли бинарные матрицы, где «1» или «0» обозначали присутствие или отсутствие фрагмента определённой длины. Для каждой пары особей рассчитывали коэффициент сходства $S=2N_{AB}/(N_A+N_B)$, где N_A и N_B – число фрагментов, выявляемых у особей А и В соответственно, и N_{AB} – число общих фрагментов [15]. При построении дендрограмм использовали парно-групповой метод для невзвешенных средних (UPGMA) из пакета прикладных программ TREECON [19].

Результаты исследований и их обсуждение. ДНК-фингерпринты пород кур, полученные с пробой ДНК фага M13, представляют собой спектры дискретных полос с интенсивной гибридизацией и характеризуются различным числом, расположением и интенсивностью выявленных фрагментов. Размер детектируемых фрагментов находится в пределах 1,7–23,0 т.п.н. Число индивидуальных фрагментов с размером 2,3–18,6 варьирует на первом фильтре от 38 до 48, на втором фильтре – от 40 до 46, что составляет в среднем 41,1 и 40,6 соответственно. Высокая индивидуальная вариабельность по числу фрагментов не позволяет выявить ни различия между отдельными особями, ни различия между отдельными породами. Однако при построении дендрограммы (рисунок) все исследованные образцы формируют с высокой достоверностью две надежные группы. В одну из них объединены по три представителя юрловских и бойцовых кур, а также две особи орловских кур. Юрловские куры формируют обособленный подкластер, отличный от смешанной группы из трех бойцовых и двух орловских кур. Одна из орловских и все оставшиеся куры, а именно полтавские, бурые леггорны, аппенцеллеры и белохохлые, составляют второй большой кластер. Внутри этой группы не обнаружено четкой принадлежности образцов к отдельным породным подгруппам. Вариация индексов сходства S в первой группе, содержащей две породы бойцовых (БЦ, ОРЛ) кур и одну мясо-яичную породу (Ю), составляет 0,28–0,57. Несколько меньший размах изменчивости показателя S (0,32–0,55) наблюдается во второй группе пород, представленной мясо-яичными (П, БХГ, АПЦ) и яичными (БЛ) курами.

Снижение генетической изменчивости в группах яичных кур по сравнению с бойцовыми и мясными породами обнаружена ранее при использовании в качестве генетических маркеров изоферментного и белкового полиморфизма [1, 4], а также при использовании RAPDs [8] и микросателлитов [11]. В этих работах показано, что снижение полиморфизма наблюдается в длительно селектируемых человеком популяциях по сравнению с нативными популяциями кур из разных регионов. Это связано, в первую очередь, с интенсивностью и направлением отбора, приводящего к повышению уровня инбридинга в

длительно селектируемых породах, и почти не зависит от используемого типа маркеров. Впервые к такому выводу пришли в одной из первых работ по калибровке уровня инбридинга по минисателлитам M13 у шести яичных пород с известной историей [13]. В дальнейшем доминирующая роль искусственного отбора в сохранении генетического разнообразия кур продемонстрирована при сравнении изменчивости минисателлитов в стандартизированных линиях кур с высоким уровнем инбридинга [16]. Относительно недавно к аналогичному выводу пришли при генотипировании по микросателлитам большого числа пород и популяций разного типа из Европы и Азии [11].



Дендрограмма генетического сходства между представителями семи пород кур

Следует заметить, что генетическое разнообразие современных пород во многом определяется также их географическим происхождением и системой скрещиваний, лежащих в основе предковых популяций. Известно, что исторические корни мясных и бойцовых кур находятся в Азии, тогда как яичный тип пород формировался в Средиземноморье [2, 4]. Европейские мясо-яичные куры составляют, главным образом, смешанную группу, полученную преимущественно на основе скрещиваний местных пород яичного типа с после-

дующей селекцией по массе тела [4] (Моисеева, 2006). Этот вывод касается не только пород европейской селекции, но и полтавской глинистой [14] (Moiseeva et al., 2007). Именно этим и объясняется наблюдаемое нами на дендрограмме отсутствие породоспецифичных групп в большом кластере мясо-яичных и яичных кур. Что же касается юрловских мясо-яичных кур, то их кластеризация исключительно с бойцовыми малайскими и орловскими подтверждает азиатское происхождение основателей этой породы. К сожалению, мы не можем оценить на основании представленных данных вклад, долю крови в формирование этой породы бойцовых и мясных азиатских кур. Участие этих кур в формировании юрловской породы показано ранее при изучении морфологических признаков [4, 5]. Интересно, что в одном из исследований, проводившихся в рамках Международного проекта AVIANDIV (1999–2000), юрловская голосистая была представлена двумя выборками: из экспериментального хозяйства ИП УААН (Украина) и ВНИТИП (Российская Федерация). От каждой страны были протестированы образцы крови от 50 особей данной породы по 25 микросателлитным локусам. Из отечественных пород наряду с юрловскими курами обследованы орловские, полтавские глинистые и украинская бородастая. Показано, что среди всех изученных популяций именно юрловская порода характеризуется наиболее высокими индексами гетерозиготности (H) и средней частотой полиморфных локусов (P). Это разнообразие несколько выше в российской популяции юрловских кур (H=0,66, P=1) по сравнению с курами Украины (H=0,58, P=1). В другой более поздней работе, выполненной участниками проекта [11] на том же материале с использованием 22 динуклеотидных микросателлитных локусов, значение H у юрловских кур из России составило 0,62, из Украины – 0,58 (среднее значение по всей совокупности популяций – 0,47).

Происхождение старой русской породы орловских кур, которых относят к мясо-яичным курам с морфотипом бойцовых кур, окончательно не установлено. На основании изучения полиморфизма белков яиц и крови, дискретных морфологических признаков продемонстрирована генетическая уникальность этой породы и выявлено ее родство с английскими бойцовыми старого типа, гилянскими и малайскими бойцовыми курами [3, 4]. При анализе микросателлитного полиморфизма подтверждено сходство орловских и бойцовых кур [11]. Дифференциация образцов этой породы в нашем исследовании также свидетельствует о высоком сходстве орловских кур с малайскими курами. Однако на основании дендрограммы нельзя исключить у исследованной нами птицы примесь крови европейских пород.

Выводы. Показана эффективность использования мультилокусного геномного ДНК-фингерпринтинга (M13/Naе III) в качестве ДНК-маркера для дифференциации пород кур украинской и российской селекции. История происхождения изученных пород и возможные причины изменения их генетического разнообразия требуют дальнейшего исследования с привлечением более широкого набора маркеров на более многочисленной выборке пород и породных групп кур.

1. *Дифференциация* пород кур по биохимическим маркерам генов / И.Г. Моисеева [и др.] // Генетика. – 1984. – Т. 20, № 4. – С. 672–681.
2. *Моисеева И.Г.* Отечественные породы кур // Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных: редкие и исчезающие отечественные породы / Моисеева И.Г.; под ред. И.А. Захарова. – М.: Наука, 1992. – С. 11–112.
3. *Генетическая* структура и происхождение старой русской орловской породы кур / И.Г. Моисеева [и др.] // Генетика. – 1994. – Т. 30, № 5. – С. 681–694.
4. *Моисеева И.Г.* Породы кур и их генофонды / И.Г. Моисеева; отв. ред. И.А. Захаров // Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства России. – М.: Наука, 2006. – С. 229–388.
5. *Никифоров А.А.* Место русских пород кур в разнообразии пород Евразии / А.А. Никифоров, И.Г. Моисеева, И.А. Захаров // Генетика. – 1998. – Т. 34, № 6. – С. 850–851.
6. *Рысков А.П.* Мультилокусный ДНК-фингерпринтинг в генетико-популяционных исследованиях биоразнообразия / Рысков А.П. // Молекулярная биология. – 1999. – Т. 33, № 6. – С. 997–1011.
7. *Использование* полиморфных маркеров для дифференциации пород кур различного происхождения / С.К. Семёнова [и др.] // Генетика. – 1996. – Т. 32. – С. 795–803.
8. *Генетический* полиморфизм русских, европейских и азиатских пород кур, выявляемый с помощью ДНК и белковых маркеров / С.К. Семёнова [и др.] // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 9. – С. 1304–1308.
9. *Genetic structure of a wide-spectrum chicken gene pool / Z. Granevitze [et al.] // Animal Genetics. – 2009. – Vol. 40, № 5. – P. 686–693.*
10. *DNA fingerprints of poultry / J. Hillel [et al.] // Anim. Genetics. – 1989. – Vol. 20. – P. 145–155.*
11. *Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools / J. Hillel [et al.] // Genet. Sel. Evol. – 2003. – № 35. – P. 533–557.*
12. *DNA fingerprinting: a tool for determining genetic distances between strains of poultry / U. Kuhnlein [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 1989. – Vol. 77. – P. 669–672.*
13. *Assessment of inbreeding by DNA fingerprinting: development of a calibration curve using defined strains of chickens / U. Kuhnlein [et al.] // Genetics. – 1990. – Vol. 125. – P. 161–165.*
14. *Poltava chicken breed of Ukraine: history, characterization and conservation / I.G. Moiseyeva [et al.] // Animal Genetic Resources Information. – 2007. – № 40. – P. 71–78.*
15. *Nei M.* Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases / M. Nei, W.-H. Li // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1979. – № 76. – P. 5269–5273.
16. *Plotsky Y.* Genetic characterization of highly inbred chicken lines by two DNA methods: DNA fingerprinting and polymerase chain reaction using arbitrary primers / Y. Plotsky, M.G. Kaiser, S.J. Lamont // Animal Genetics. – 1995. – Vol. 26. – P. 163–170.
17. *Romanov M.N.* Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers / M.N. Romanov, S. Weigend // Poultry Science. – 2001. – Vol. 80. – P. 1057–1063.

18. *Empirical* evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds / N.A. Rosenberg [et al.] // *Genetics*. – 2001. – Vol. 159. – P. 699–713.

19. *Van der Peer Y.* TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment / Y. Van der Peer, R. De Wachter // *Comput. Applic. Biosci.* – 1994. – Vol.10. – P. 569–570.

20. *Weigend S.* Current strategies for the assessment and evaluation of genetic diversity in chicken resources / S. Weigend, M.N. Romanov // *World's Poultry Science Journal*. – 2001. – Vol. 57, № 3. – P. 275–288.

ГЕНЕТИЧНА ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ ПОРІД *GALLUS GALLUS* L. ЗА ДОПОМОГОЮ ДНК-ФІНГЕРПРИНТИНГУ

А.Л. Філенко¹, В.А. Васильєв¹, В.В. Міделашвілі¹, І.Г. Моїсеєва²,
А.А. Севастьянова³, С.К. Семенова¹

Інститут біології гена РАН (Москва, Росія)¹

Інститут загальної генетики імені М.І. Вавилова РАН (Москва, Росія)²

Всеросійський науково-дослідний і технологічний інститут птахівництва (Сергієв Посад, Росія)³

Проведено генетичну диференціацію семи порід курей, що розводяться на території Росії і України за допомогою мультилокусного геномного ДНК-фінгерпринтингу (M13/Нае III). На основі мінливості мінісателітних маркерів, яку спостерігали за допомогою парно-групового методу для незважених середніх (UPGMA), було побудовано дендрограму генетичної схожості. Показано, що усі досліджені зразки формують два надійні кластери, в один з яких об'єднуються малайські, орловські ситцеві і юрловські голосисті кури. До другої групи належать усі породи, що залишилися, – полтавська глиниста, бурій леггорн, апенцелер і білохохла голландська. Обговорюються ефективність використання ДНК-маркерів різного типу для диференціації порід курей, а також історія походження вивчених порід і можливі причини зміни їхньої генетичної різноманітності.

Ключові слова: ДНК-фінгерпринтинг, мінісателіти, породи курей, генетична диференціація

GENETIC DIFFERENTIATION OF BREEDS *GALLUS GALLUS* L. WITH DNA FINGERPRINTING

A.L. Filenko¹, V.A. Vasilyev¹, V.V. Midelashvili¹, I.G. Moiseeva², A.A. Sevastyanova³,
S. K. Semyanova¹

Institute of Gene Biology RAS (Moscow, Russia)

N.I. Vavilov Institute of General Genetics RAS (Moscow, Russia)

All-Russian Scientific Research and Technological

Institute of Poultry (Sergiev Posad, Russia)

Genetic differentiation of seven Russian and Ukrainian chicken breeds had been carried out with multilocus genome DNA fingerprinting. Dendrogram of genetic similarity was constructed

(UPGMA method) on the base of minisatellite variability. It was shown that studied breeds formed two distinguished clusters. One of them contained the Malay Game, Orlov Calico and Yurlov Sonorous breeds. The second cluster included Poltava Clay, Leghorn Brown, Appentseller and Holland White Crested breeds. The efficiency of DNA-markers of different types use for chicken breed genetic differentiation, the history of studied breeds' origin and possible reasons for their genetic diversity change were discussed.

Key words: DNA fingerprinting, minisatellites, chicken breeds, genetic differentiation

УДК 575.113:636.92

ГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА КРОЛІВ НОВОЗЕЛАНДСЬКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ ЗА ПОЛІМОРФНИМИ ВАРІАНТАМИ С34Т ГЕНА *MSTN* ТА G2464A ГЕНА *PGR*

Є.А. ШЕВЧЕНКО^{1,2}, К.В. КОПИЛОВ¹, О.М. ФЕДОТА^{1,3}

Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)¹

Черкаська дослідна станція біоресурсів ІРГТ НААН (Черкаси, Україна)²

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна (Харків, Україна)³

shevchenko.e.a.ser@gmail.com

*Представлено результати генотипування кролів новозеландської білої породи за поліморфними варіантами С34Т гена міостатину (*MSTN*) та G2464A гена прогестеронового рецептора (*PGR*). Розподіл частот алелів досліджуваних генів становив: С – 0,471 і Т – 0,529, G – 0,433 і А – 0,567. Доведено вплив генотипу кролів за генами міостатину та прогестеронового рецептора на прояв господарськи корисних ознак – середньодобового приросту, багатоплідності, диференційної адаптивності до інфекційних захворювань. Тому в господарствах найбільш ефективним напрямом селекції кролів новозеландської білої породи за поліморфним варіантом С34Т гена *MSTN* буде добір на користь гетерозигот СТ.*

Ключові слова: кролі, ПЛР-ПДРФ, міостатин, прогестероновий рецептор, продуктивність

Введення. Актуальним питанням у кролівництві наразі є вивчення генетичних детермінант високої продуктивності й використання генетичного моніто-

© Є.А. Шевченко, К.В. Копилов, О.М. Федота, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47