

Организация генома четырех экспериментальных популяций кур, выявляемая мультилокусным анализом с молекулярным зондом

Валентина Ивановна Тыщенко, Валерий Павлович Терлецкий

ГАОУ ВО ЛО «Ленинградский государственный университет им. А.С. Пушкина»

Аннотация: Цель исследования заключалась в выявлении особенностей генетической структуры в трех экспериментальных популяциях и одной породе кур Биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ. В качестве метода исследования использовали мультилокусный анализ с меченым молекулярным зондом (СТС)₅, который комплементарно связывался с отдельными участками геномной ДНК кур. Визуализация фрагментов ДНК на нейлоновом фильтре позволила выявить их число и расположение, которое было характерным для каждой особи. Использование программы Gelstats™ дало возможность провести расчет основных популяционно-генетических параметров: коэффициента сходства внутри групп и между группами, числа выявляемых генетических локусов, гетерозиготности и генетических расстояний между группами кур. Установлено, что максимальное разнообразие отмечалось у кур популяции ленинградская золотисто-серая (H=0,82). Генетически отдаленными были куры популяции ленинградская золотисто-серая и породы нью-гемпшир. Результаты работы свидетельствуют о применимости данного аналитического метода в выявлении особенностей генетической структуры в популяциях кур.

Ключевые слова: популяция, куры, ДНК, гетерозиготность.

Для цитирования: Тыщенко, В.И. Организация генома четырех экспериментальных популяций кур, выявляемая мультилокусным анализом с молекулярным зондом / В.И. Тыщенко, В.П. Терлецкий // Птицеводство. – 2025. – №3. – С. 13-17.

doi: 10.33845/0033-3239-2025-74-3-13-17

Введение. В ходе селекционной работы генетическое разнообразие, заложенное в совокупности особей, составляющих биологический вид животных, в значительной степени перераспределяется между многочисленными искусственно выведенными породами. В зависимости от направления продуктивности и условий содержания, каждая порода имеет часть первоначального генетического материала, который обеспечивает наилучшую приспособленность к внешней среде и выражается в определенном направлении продуктивности [1]. В ходе искусственного отбора гены, участвующие в формировании продуктивных качеств, концентрируются в породах животных. Помимо

вовлечения существовавших ранее генных комплексов, не исключено и включение новых аллелей при появлении мутаций и действии отбора [2,3].

В процессе селекционной работы создаются новые высокопродуктивные популяции и породы сельскохозяйственной птицы, что приводит к замещению ценного генофонда локальных пород генными комплексами, определяющими высокую продуктивность, но снижающими жизнеспособность и устойчивость к инфекционным заболеваниям вследствие повышения уровня инбридинга [4]. Любые изменения условий выращивания птицы в хозяйствах, новые компоненты в комбикормах и

другие факторы могут потребовать интродукции генотипов локальных пород для обеспечения устойчивости птиц к новым условиям. В настоящее время по экономическим причинам поголовье таких птиц – носителей ценных генотипов – постепенно снижается, что диктует необходимость принятия мер по их поддержанию. Сохранения генофонда можно достичь как разведением «в себе» генофондных пород, так и использованием экспериментальных популяций, несущих ценные комбинации генов от локальных пород [5]. При сохранении таких популяций следует поддерживать высокую численность особей, однако это по экономическим причинам невы-



Таблица 1. Характеристика и происхождение изучаемых пород и популяций кур Биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ

Породы и популяции кур	Породы, вероятно, участвовавшие в выведении птицы	Яйценоскость, шт. яиц в год	Продуктивность	
			Живая масса, кг	Масса яйца, г
царскосельская	полосатый плимутрок, нью-гемпшир, полтавская глинистая, цветные бройлеры кросса «Бройлер-6»	180-190	♂2,8-3,0 ♀2,2-2,3	58-59
ленинградская золотисто-серая	бурый леггорн, пушкинская полосато-пестрая, нью-гемпшир, полтавская глинистая	180-190	♂2,8-3,0 ♀2,2-2,3	58-59
ленинградская ситцевая	черно-пестрый австралорп, нью-гемпшир, полтавская глинистая	160-180	♂2,4-2,7 ♀2,0-2,2	58-60
нью-гемпшир	род-айланд	190-210	♂2,6-2,9 ♀2,1-2,4	190-210



Рис. 1. Ленинградская ситцевая популяция кур. Слева – петух, справа – курица

годно. Малые по численности популяции ведут, по крайней мере, к трем опасным последствиям: 1) снижение аллельного разнообразия, полиморфизм популяции утрачивает характерные признаки в результате генетического дрейфа; 2) инбредная депрессия, снижающая жизнеспособность и в дальнейшем приводящая к вымиранию популяции; 3) возрастание угрозы вымирания в силу внешних случайных причин – эпизоотий, стихийных бедствий, неправильных административных решений. Необходимо искать разумный компромисс между затратами на разведение популяции и поддержанием ее необходимой численности. Восстановление пород на базе имеющегося материала часто

невозможно, и исследователи вынуждены использовать сходные по фенотипическим признакам породы. В этой связи изучение генетического разнообразия как в генофондных породах, так и в экспериментальных популяциях является актуальной задачей современной генетики [6,7]. Методы молекулярной генетики сейчас активно используются в изучении генофонда птиц, как на уровне отдельных однонуклеотидных замен (SNP) [8], генов [9,10], микросателлитной ДНК [11], так и сканирования полного генома (GWAS) с помощью чиповой технологии с выявлением генов-кандидатов [12].

Материал и методика исследований. Биоматериал (по 10-11 особей от каждой группы) был взят

от трех экспериментальных популяций Биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ – царскосельская, ленинградская золотисто-серая, ленинградская ситцевая, и породы нью-гемпшир. История выведения и наиболее важные продуктивные признаки птицы представлены в табл. 1.

Каждая из изучаемых популяций характеризовалась фенотипическими особенностями, например, характерная окраска присуща ленинградской ситцевой птице (рис. 1).

Оценка особенностей структуры генома основывалась на использовании мультилокусного анализа с применением меченого молекулярного зонда (GTC)5. Первым этапом процедуры является выделение геномной ДНК из крови птиц. Использовали традиционный фенольно-детергентный метод, позволяющий получить высококачественную ДНК, пригодную для дальнейшего расщепления эндонуклеазой рестрикции *BsuRI* [7]. После расщепления и очистки в этаноле образцы подвергали электрофорезу в 0,8% агарозном геле для разделения всех фрагментов ДНК по размеру. Перенос ДНК с геля на нейлоновый фильтр производили в вакуумном аппарате. Молекулярная гибридизация фрагментов ДНК на фильтре с меченым



дезоксигенином зондом (GTG)5 происходила при температуре 45°C в гибридационном буфере. После отмывки от не включившейся метки, места связывания дезоксигенина выявляли в иммунохимической реакции с конъюгатом антитело/щелочная фосфатаза и цветными красителями NBT и BCIP. Визуализация расположения фрагментов ДНК позволила выявить как индивидуальные различия в генетических профилях каждой особи, так и рассчитать межпопуляционные различия. Программа Gelstats™ позволила рассчитать вероятность встречаемости двух одинаковых генотипов (P), коэффициенты генетического сходства внутри популяции (BS¹) и между популяциями (BS²), генетические расстояния (D), число выявляемых генетических локусов, число аллелей на 1 локус и уровень средней по всем локусам гетерозиготности [7].

Результаты исследований и их обсуждение. После проведения молекулярной гибридизации с ДНК-зондом количество выявляемых фрагментов у разных особей варьировало от 30 до 50. Особи отличались друг от друга не только по количеству фрагментов, но и по их распределению на фильтре. После ввода этих данных в табличном виде, программа Gelstats™ рассчитала все популяционно-генетические параметры как внутри популяций, так и между ними (табл. 2).

Несколько повышенное значение коэффициента сходства можно отметить у ленинградской ситцевой (BS = 0,34). Популяции царскосельская (BS = 0,25), ленинградская золотисто-серая (BS = 0,23), нью-гемпшир (BS = 0,25) отличаются высокой внутрипородной изменчивостью. Наибольшее генетиче-

Таблица 2. Популяционно-генетические параметры 4 изучаемых групп кур Биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ, рассчитанные программой Gelstats™ на основе попарного сравнения

Популяции кур	n	Полос на дорожку, X±m		P	BS ¹	BS ²	D
царскосельская ленинградская золотисто-серая	11	16,7±0,8	1,1x10 ⁻¹⁰	0,25	0,16	0,080	
царскосельская ленинградская ситцевая	10	16,7±0,8	1,1x10 ⁻¹⁰	0,23	0,19	0,100	
царскосельская нью-гемпшир	11	16,7±0,8	1,1x10 ⁻¹⁰	0,25	0,17	0,080	
ленинградская золотисто-серая ленинградская ситцевая	10	18,3±1,0	2,4x10 ⁻⁹	0,34	0,20	0,090	
ленинградская золотисто-серая нью-гемпшир	10	18,1±2,1	1,6x10 ⁻¹¹	0,25	0,12	0,120	
ленинградская ситцевая нью-гемпшир	10	18,3±1,0	2,4x10 ⁻⁹	0,34	0,18	0,115	

Примечания: P – вероятность встречаемости двух особей с идентичным набором фрагментов ДНК; BS¹ – коэффициент сходства внутри групп; BS² – коэффициент сходства между группами; D – генетическое расстояние.

Таблица 3. Средняя гетерозиготность (H) в 4 изучаемых группах кур Биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ

Популяции кур	n	Число локусов	Число аллелей	Число полиморфных локусов	H
царскосельская	11	9,28	7,97	1,00	0,80
ленинградская золотисто-серая	11	9,09	8,25	1,00	0,82
ленинградская ситцевая	10	10,55	6,54	1,00	0,73
нью-гемпшир	10	10,15	8,618	1,00	0,78

ское расстояние отмечено между нью-гемпширом и ленинградской золотисто-серой (D = 0,120), нью-гемпширом и ленинградской ситцевой (D = 0,115). Наименьшее генетическое расстояние наблюдалось между царскосельской и нью-гемпширом, царскосельской и ленинградской золотисто-серой (D=0,080). Эти данные неплохо согласуются с известной историей выведения и дальнейшего разведения популяций (см. табл. 1).

Далее было изучено внутрипопуляционное разнообразие по критерию средней гетерозиготности, числу детектируемых локусов, аллелей и полиморфных участков (табл. 3). Все четыре популяции кур имели высокий уровень гетерозиготности: от 0,73 у ленинградской ситцевой до 0,82 у ленинградской золотисто-серой.

Гетерозиготность определяется как численностью популяции, так и стратегией ее искусственного разведения, когда в осеменении могут принимать участие ограниченное число петухов.

Заключение. Таким образом, мультилокусный анализ с использованием молекулярного зонда (GTG)5 позволяет выявить и рассчитать основные популяционно-генетические параметры в экспериментальных группах кур. Данные хорошо соотносятся с известной историей создания и разведения птицы и могут служить ориентиром при скрещивании разных групп с целью добиться максимального гетерозиса и закрепления желательных признаков. Наиболее гетерогенной популяцией оказалась ленинградская золотисто-серая с показателем средней гетерозиготности 0,82.

Литература

1. Гальперн, И.Л. Использование двух генофондных пород кур для создания трехлинейного яично-мясного кросса / И.Л. Гальперн, О.Ю. Перинек, З.Л. Федорова // Птица и птицепродукты. - 2020. - №1. - С.34-39.
2. Desta, T.T. Sustainable intensification of indigenous village chicken production system: matching the genotype with the environment / T.T. Desta // Trop. Anim. Health Prod. - 2021. - V. 53. - No 3. - P. 337.
3. Ren, T. Genetic diversity and population genetic structure of Cambodian indigenous chickens / T. Ren, M. Nunome, T. Suzuki, Y. Matsuda // Anim. Biosci. - 2022. - V. 35. - No 6. - P. 826-837.
4. Doekes, H.P. How depressing is inbreeding? A meta-analysis of 30 years of research on the effects of inbreeding in livestock / H.P. Doekes, P. Bijma, J.J. Windig // Genes. - 2021. - V. 12. - No 6. - P. 926.
5. Коршунова, Л.Г. Молекулярная генетика в селекции сельскохозяйственной птицы / Л.Г. Коршунова, Р.В. Карапетян // Птицеводство. - 2018. - №2. - С. 2-5.
6. Rostamzadeh Mahdabi, E. A genome-wide scan to identify signatures of selection in two Iranian indigenous chicken ecotypes / E. Rostamzadeh Mahdabi, A. Esmailzadeh, A. Ayatollahi Mehrgardi, M. Asadi Fozi // Genet. Sel. Evol. - 2021. - V. 53. - No 1. - P. 72.
7. Тыщенко, В.И. Молекулярно-генетическая характеристика четырех генофондных пород кур / В.И. Тыщенко, В.П. Терлецкий // Птица и птицепродукты. - 2019. - №3. - С. 64-66.
8. Баркова, О.Ю. Ассоциация мононуклеотидных замен rs29005090 и rs317858728 гена GOS2 с признаками массы тела и отложения жира у кур породы царскосельская / О.Ю. Баркова, А.А. Крутикова, А.Е. Рябова // Птица и птицепродукты. - 2024. - №1. - С. 32-36.
9. Митрофанова, О.В. Связь генотипов по однонуклеотидным заменам в гене миостатина с показателями живой массы у кур юрловской породы / О.В. Митрофанова, Н.В. Деметьева, В.И. Тыщенко [и др.] // Генетика и разведение животных. - 2015. - №1. - С. 39-42.
10. Коршунова, Л.Г. Использование генетических методов на основе ДНК-маркеров продуктивных признаков в селекции кур / Л.Г.Коршунова, Р.В. Карапетян // Птицеводство. - 2021. - №5. - С. 4-7.
11. Samaraweera, A.M. High genetic diversity but absence of population structure in local chickens of Sri Lanka inferred by microsatellite markers / A.M. Samaraweera, R. Liyanage, M.N. Ibrahim [et al.] // Front. Genet. - 2021. - V. 12. - P. 723706.
12. Баркова, О.Ю. Обзор генов-кандидатов, ассоциированных с массой тела кур, выявленных с помощью GWAS-анализа / О.Ю. Баркова // Птицеводство. - 2024. - №3. - С. 9-15.

Сведения об авторах:

Тыщенко В.И.: кандидат биологических наук, доцент; tinatvi@mail.ru. **Терлецкий В.П.:** доктор биологических наук, профессор; valeriter@mail.ru.

Статья поступила в редакцию 16.12.2024; одобрена после рецензирования 25.01.2025; принята к публикации 20.02.2025.

Research article

Genome Structure and Its Variability in Four Chicken Populations as Revealed by Multiple Loci Analysis with a Molecular Probe

Valentina I. Tyshchenko, Valery P. Terletsky

Pushkin Leningrad State University

Abstract. The purpose of the study was to identify the characteristics of the genetic structure in three experimental populations and one breed of chickens from the Bioresource Collection (gene pool) of our Institute by multiple loci analysis with a labeled molecular probe (GTG)5 which complementarily binds to individual sights of chicken genomic DNA. Visualization of DNA fragments on a nylon filter revealed their number and location, the latter being characteristic for each individual bird. The main population genetic parameters were calculated with the use of Gelstats™ software: the coefficient of similarity within and between populations, the number of identified genetic loci, heterozygosity and



genetic distances between populations. It was found that the maximum diversity was observed in chickens of Leningrad Golden-Gray population ($H = 0.82$). Chickens from the Leningrad Golden Gray and New Hampshire populations were genetically distant. The results indicate the applicability of this analytical method in the identification of the characteristics of genetic structure in chicken populations.

Keywords: population, chicken, DNA, heterozygosity.

For Citation: Tyshchenko V.I., Terletsky V.P. (2025) Genome structure and its variability in four chicken populations as revealed by multiple loci analysis with a molecular probe. *Ptitsevodstvo*, 74(3): 13-17. (in Russ.)

doi: 10.33845/0033-3239-2025-74-3-13-17

References

- Galpern IL, Perinek OY, Fedorova ZL (2020). doi: 10.30975/2073-4999-2020-22-1-34-39. (In Russ.).
- Desta TT (2021). doi: 10.1007/s11250-021-02773-5.
- Ren T, Nunome M, Suzuki T, Matsuda Y (2022). doi: 10.5713/ab.21.0351.
- Doekes HP, Bijma P, Windig JJ (2021). doi: 10.3390/genes12060926.
- Korshunova LG, Karapetyan RV (2018) Molecular genetic methods in poultry selection. *Ptitsevodstvo*, (2):2-5. (In Russ.).
- Rostamzadeh Mahdabi E, Esmailizadeh A, Ayatollahi Mehrgardi A, Asadi Fozzi M (2021). doi: 10.1186/s12711-021-00664-9.
- Tyshchenko VI, Terletsky VP (2019). doi: 10.30975/2073-4999-2019-21-3-64-66. (In Russ.).
- Barkova OY, Krutikova AA, Ryabova AE (2024). doi: 10.30975/2073-4999-2024-26-1-32-36. (In Russ.).
- Mitrofanova OV, Dementeva NV, Tyshchenko VI, Yurchenko OP, Vachrameev AB (2015) Relationship of SNP genotypes in myostatin gene with carcass weight trait in Yurlov chicken breed. *Anim. Genet. Breed. (Russia)*, (1):39-42. (In Russ.).
- Korshunova LG, Karapetyan RV (2021). doi: 10.33845/0033-3239-2021-70-5-4-7. (In Russ.).
- Samaraweera AM, Liyanage R, Ibrahim MN, Okeyo AM, Han J, Silva P (2021). doi: 10.3389/fgene.2021.723706.
- Barkova OY (2024). doi: 10.33845/0033-3239-2024-73-3-9-15. (In Russ.).

Authors:

Tyshchenko V.I.: Cand. of Biol. Sci., Assoc. Prof.; tinatvi@mail.ru. **Terletsky V.P.:** Dr. of Biol. Sci., Prof.; valeriter@mail.ru.

Submitted 16.12.2024; revised 25.01.2025; accepted 20.02.2025.

© Тыщенко В.И., Терлецкий В.П., 2025

ОТРАСЛЕВЫЕ НОВОСТИ

ВНИИЗЖ в 2025 году разработает новую вакцину против гриппа птиц

Ученые Россельхознадзора в рамках федеральной научно-технической программы к 2030 году разработают 42 новые вакцины для животных. Многие из них не имеют отечественных аналогов и ввозились из-за рубежа, следует из материалов Федерального центра охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ» Россельхознадзора)

Портфель разработок центра для птицеводов на 2025 год включает живую вакцину против инфекционной анемии цыплят, болезни Гамборо (штамм ИББ-Медиус), против аденовирусной инфекции «Аденовак», а также инактивированную вакцину против гриппа птиц H7. Также туда включены две вакцины против сальмонеллеза птицы (инактивированная и живая).

«ВНИИЗЖ будет участвовать в ФНТП Минсельхоза, по которой они будут работать с производителями птицы над созданием новых вакцин. Это не классические вакцины, а разработки нового поколения. Если кто-то изъявит желание присоединиться на партнерских правах к разработке с ВНИИЗЖ, будем работать», — сказал Роман Рыбин, выступая на Международной научно-практической конференции ветеринарных врачей птицефабрик РФ и стран СНГ «Актуальные вопросы диагностики и профилактики инфекционных заболеваний птиц в промышленном птицеводстве».

Роман Рыбин добавил, что за прошлый год ВНИИЗЖ разработал 11 новых вакцин для сельскохозяйственных и домашних животных. По итогам прошедшего года институт увеличил выпуск более чем в два раза: с 6 млрд доз в 2023 году до 13,5 млрд доз в 2024-м.

Источник: <https://vetandlife.ru>