

Генетические особенности пород индеек биоресурсной коллекции Селекционно-генетического центра «СКЗОСП»

Шинкаренко Л.А., кандидат сельскохозяйственных наук, зам. директора по научной работе
Селекционно-генетический центр «Северо-Кавказская ЗОСП» (СГЦ «СКЗОСП») - филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН

Терлецкий В.П., доктор биологических наук, профессор

Тыщенко В.И., кандидат биологических наук

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных (ВНИИГРЖ) - филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства - ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста»

Аннотация: Целью исследования являлось проведение экспертизы по популяционно-генетическим параметрам методом ДНК-фингерпринтинга 7 пород индеек российской селекции, входящих в ЦКП БРК, для подтверждения поддержания их специфических свойств и качеств. По программе Gelstats рассчитывали коэффициенты сходства внутри изучаемых пород и линий (BS^1) и между ними (BS^2), были вычислены значения генетического расстояния (D) между породами и коэффициенты средней гетерозиготности (H). Результаты указывают на достоверность происхождения всех 7 пород и отсутствие генетических аномалий. Установлено наличие специфических фрагментов ДНК у отдельных пород и линий. Выявлено значительное генетическое расстояние черной тихорецкой породы от других пород, что говорит о ее генетической изоляции на протяжении длительного времени и отсутствии скрещивания с другими породами, о чем также свидетельствует наиболее низкое внутривидовое разнообразие ($BS^1=0,65$) и средняя гетерозиготность ($H^1=0,36$) в этой породе. Максимальное разнообразие отмечалась у индеек серебристой северокавказской породы ($BS^1=0,45$) и линии О₄ белой широкогрудой породы ($BS^1=0,48$). Самыми близкими оказались породы бронзовая северокавказская и белая северокавказская ($D=0,06$); при этом между серебристой северокавказской и узбекской палевой породами наблюдался самый большой коэффициент межпородного сходства ($BS^2=0,43$). Полученные данные свидетельствуют об эффективности и интенсивности селекционной работы в генофондном хозяйстве индеек СГЦ «СКЗОСП».

Ключевые слова: породы индеек, ДНК-фингерпринтинг, генетические расстояния, коэффициенты сходства, специфические фрагменты ДНК, гетерозиготность.

Введение. Биологическое разнообразие индеек в виде пород, линий, популяций является необходимым условием для совершенствования существующих и создания новых селекционных форм, позволяющих сохранить в чистоте породы генофонда и создавать новые кроссы для промышленного индейководства путем подбора индеек с разными генотипами [1-3].

СГЦ «СКЗОСП» имеет статус генофондного хозяйства по семи породам индеек отечественной селек-

ции. Приказом Минсельхоза России №738 от 31 декабря 2019 г. статус генофондного хозяйства был присвоен Центру по следующим породам индеек: бронзовой северокавказской, белой северокавказской, серебристой северокавказской, московской белой, узбекской палевой, черной тихорецкой и белой широкогрудой, состоящей из двух линий [4]. Все породы индеек занесены в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию [5], включены в ЦКП БРК индеек.

С одной стороны, сохранение большого поголовья пород и линий экономически не оправдано, но, с другой стороны, их потеря приводит к сужению генетического разнообразия породного состава, снижению эффекта племенной работы по выведению новых линий и популяций индеек. Поэтому актуальным направлением является проведение экспертизы отечественного генофондного стада индеек 7 пород по критериям генетического соответствия стандартам.

Материал и методика исследова-





дований. Материалом для исследований являлись 7 пород индеек отечественной селекции, составляющих ЦКП БРК индеек. Исследования были проведены в 2019 г. на производственной базе СГЦ «СКЗОСП» Ставропольского края с целью подтверждения специфических свойств пород, достоверности происхождения и отсутствия генетических аномалий. Генетическая экспертиза была проведена методом ДНК-фингерпринтинга проб крови индеек, которую отбирали в пробирки с 5% раствором цитрата натрия и затем хранили при -20°C . Схема проведения работ с образцами крови индеек представлена на рис. 1.

ДНК-фингерпринтинг позволяет выявлять гибридационные полосы фрагментов геномной ДНК, распределение которых различно в каждом образце ДНК. Анализ общих полос и частот встречаемости полос дает информацию о внутрилинейном и межлинейном генетическом разнообразии, а также о внутрипопуляционной гетерогенности - гетерозиготности.

Интенсивная селекция в породах, приводящая к повышению

продуктивных качеств животных, одновременно сопровождается потерей генетического разнообразия популяций [6]. Современные данные показывают, что генетическое разнообразие в популяциях определяется не столько численностью популяции, сколько стратегией отбора и разведения. Установлено, что уровень инбридинга в популяциях может быть оценен по коэффициенту сходства в распределении фрагментов ДНК на картинах фингерпринтинга [7].

Самыми надежными методами изучения генетического разнообразия являются ДНК-фингерпринтинг с микро- и минисателлитной ДНК птицы, RAPD-анализ [8].

В наших исследованиях методом ДНК-фингерпринтинга были изучены популяционно-генетические параметры 7 пород индеек, частоты встречаемости фрагментов ДНК и аллелей, уровни средней гетерозиготности. Также была подтверждена правильность направления селекционно-племенной работы с генофондным стадом российских пород индеек в соответствии с требованиями [9-11].

Результаты исследований и

их обсуждение. Методом ДНК-фингерпринтинга популяционно-генетические параметры сначала были изучены в 4 генофондных породах индеек. По программе Gelstats рассчитывали коэффициенты сходства внутри изучаемых групп и между группами. Высокая вероятность встречаемости двух особей с идентичным набором фрагментов ДНК наблюдалась у индеек черной тихорецкой породы - $3,46 \times 10^{-6}$, затем следовала московская белая - $9,99 \times 10^{-7}$; минимальное значение было отмечено у узбекской палевой ($4,04 \times 10^{-9}$) и серебристой северокавказской ($1,31 \times 10^{-9}$) пород. Коэффициент сходства внутри пород имел наибольшее значение у черной тихорецкой породы, $BS^1=0,65$. У московской белой он был равен 0,57, у узбекской палевой - 0,49 и самое низкое значение ($BS^1=0,45$) было отмечено у серебристой северокавказской породы. Между серебристой северокавказской и узбекской палевой породами наблюдался самый большой коэффициент сходства ($BS^2=0,43$); минимальный коэффициент ($BS^2=0,32$) - между серебристой северокавказской и черной тихорецкой породами.

По этим данным были вычислены значения генетического расстояния между породами (табл. 1). Максимальное значение генетических расстояний от всех других пород было выявлено для черной тихорецкой породы, значение D доходило до 0,260 по отношению к московской белой, 0,230 к серебристой северокавказской, 0,210 к узбекской палевой. Это говорит о генетической изоляции породы на протяжении длительного времени и отсутствии скрещивания с другими породами.



Таблица 1. Популяционно-генетические параметры 4 пород индеек генофондного стада СГЦ «СКЗОСП», рассчитанные методом ДНК-фингерпринтинга с зондом (ГТГ)5 программой Gelstats

Породы индеек	n	Полос на дорожку, X±m	P	BS ¹	BS ²	D
Московская белая	10	24,60±1,19	9,99x10 ⁻⁷	0,57		
Серебристая					0,42	0,090
северокавказская	11	25,82±3,18	1,31x10 ⁻⁹	0,45		
Московская белая	10	24,60±1,19	9,99x10 ⁻⁷	0,57	0,41	0,120
Узбекская палевая	11	27,36±2,19	4,04x10 ⁻⁹	0,49		
Московская белая	10	24,60±1,19	9,99x10 ⁻⁷	0,57		
Черная тихорецкая	11	29,27±1,77	3,46x10 ⁻⁶	0,65	0,35	0,260
Серебристая	11	25,82±3,18	1,31x10 ⁻⁹	0,45		
северокавказская					0,43	0,040
Узбекская палевая	11	27,36±2,19	4,04x10 ⁻⁹	0,49		
Серебристая	11	25,82±3,18	1,31x10 ⁻⁹	0,45		
северокавказская					0,32	0,230
Черная тихорецкая	11	29,27±1,77	3,46x10 ⁻⁶	0,65		
Узбекская палевая	11	27,36±2,19	4,04x10 ⁻⁹	0,49	0,36	0,210
Черная тихорецкая	11	29,27±1,77	3,46x10 ⁻⁶	0,65		

P - вероятность встречаемости двух особей с идентичным набором фрагментов ДНК; BS¹ - коэффициент сходства внутри пород; BS² - коэффициент сходства между породами; D - генетическое расстояние

Таблица 2. Популяционно-генетические параметры линий и пород индеек генофондного стада СГЦ «СКЗОСП», рассчитанные методом ДНК-фингерпринтинга с зондом (ГТГ)5 программой Gelstats

Породы индеек	n	Полос на дорожку, X±m	P	BS ¹	BS ²	D
Белая широкогрудая, O ₂	8	25,50±1,68	1,26 x 10 ⁻⁶	0,59		
Белая широкогрудая, O ₄	10	25,50±4,01	6,97 x 10 ⁻⁹	0,48	0,44	0,100
Белая широкогрудая, O ₂	8	25,50±1,68	1,26 x 10 ⁻⁶	0,59		
Бронзовая					0,46	0,130
северокавказская	10	26,00±2,06	1,31 x 10 ⁻⁶	0,59		
Белая широкогрудая, O ₂	8	25,50±1,68	1,26 x 10 ⁻⁶	0,59	0,44	0,140
Белая северокавказская	9	27,56±3,34	9,41 x 10 ⁻⁸	0,56		
Белая широкогрудая, O ₄	10	25,50±4,01	6,97 x 10 ⁻⁹	0,48		
Бронзовая					0,47	0,070
северокавказская	10	26,00±2,06	1,31 x 10 ⁻⁶	0,59		
Белая широкогрудая, O ₄	10	25,50±4,01	6,97 x 10 ⁻⁹	0,48		
Белая северокавказская					0,45	0,070
Бронзовая	9	27,56±3,34	9,41 x 10 ⁻⁸	0,56		
северокавказская	10	26,00±2,06	1,31 x 10 ⁻⁶	0,59	0,52	0,060
Белая северокавказская	9	27,56±3,34	9,41 x 10 ⁻⁸	0,56		

P - вероятность встречаемости двух особей с идентичным набором фрагментов ДНК; BS¹ - коэффициент сходства внутри пород; BS² - коэффициент сходства между породами; D - генетическое расстояние.

Таблица 3. Частоты встречаемости фрагментов ДНК и аллелей в 4-х породах индеек

Фрагмент ДНК	Частота фрагментов ДНК				Частота встречаемости аллелей, q=1-√1-p			
	Породы индеек							
	МБ	СС	УП	ЧТ	МБ	СС	УП	ЧТ
1	0,00	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00	0,00	0,70
37	0,00	0,27	0,27	1,00	0,00	0,15	0,15	1,00
38	1,00	0,09	0,36	1,00	1,00	0,05	0,20	1,00
57	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00
67	0,00	0,00	0,27	1,00	0,00	0,00	0,15	1,00
70	0,20	0,00	0,09	1,00	0,11	0,00	0,05	1,00

Породы: МБ - московская белая; СС - серебристая северокавказская; УП - узбекская палевая; ЧТ - черная тихорецкая.

Затем в другом эксперименте с использованием другого фильтра с полосками гибридизации (фрагментами ДНК) проанализировали генетическую вариабельность в двух линиях (O₂ и O₄) белой широкогрудой породы в сравнении с бронзовой северокавказской и белой северокавказской породами (табл. 2). Было установлено, что искусственно селекционируемые линии довольно значительно отличаются друг от друга, что свидетельствует об эффективности и интенсивности селекционной работы.

Особи породы белой широкогрудой породы линии O₄ обладают наименьшим значением коэффициента сходства внутри популяции (BS¹=0,48). Наибольшее значение имели особи белой широкогрудой породы линии O₂ и белой северокавказской породы (BS¹=0,59), что говорит о генетическом сходстве внутри пород. Но при этом они имеют наибольший коэффициент генетического расстояния (D=140), а наиболее близкими оказались бронзовая северокавказская и белая северокавказская (D=0,06) породы.

Анализ распределения фрагментов ДНК на фильтре позволил установить ряд специфических, маркерных фрагментов, характерных только для отдельных пород (табл. 3). Например, фрагменты 1 и 57 были характерными только для черной тихорецкой породы с частотой встречаемости 0,91 (10 особей из 11 в выборке несли этот фрагмент), они полностью отсутствовали у других трех пород. Эти фрагменты ДНК, наряду с некоторыми другими, внесли большой вклад в генетическое отличие черной тихорецкой породы от других пород. В



Таблица 4. Специфические фрагменты ДНК и аллели, имеющие разную частоту встречаемости в трех породах индеек, рассчитанную методом ДНК-фингерпринга

Фрагмент ДНК	Частота встречаемости фрагментов ДНК				Частота встречаемости аллелей			
	БШ, линия O ₂	БШ, линия O ₄	БрС	БС	БШ, линия O ₂	БШ, линия O ₄	БрС	БС
	12	1,00	0,10	0,20	1,00	1,00	0,05	0,11
27	0,75	0,20	0,10	0,00	0,50	0,11	0,05	0,00
43	0,00	0,40	0,80	0,78	0,00	0,23	0,55	0,53
53	1,00	1,00	0,00	0,78	1,00	1,00	0,00	0,53
56	0,00	0,70	0,90	0,89	0,00	0,45	0,68	0,67

Породы: БШ - белая широкогрудая; БрС - бронзовая северокавказская; БС - белая северокавказская.

предыдущие годы также отмечалось заметное отличие данной породы индеек. Таким образом, известные данные по созданию и разведению черной тихорецкой породы подтверждаются молекулярно-генетическим анализом.

Специфические фрагменты позволяют идентифицировать группы на принадлежность к определенной породе (табл. 4). Например, фрагмент 12 встречается у всех особей белой широкогрудой породы линии O₂ и при этом в линии той же породы O₄ - только у 10% особей.

Интересным представляется изучение внутривидового (внутрипородного) разнообразия

по критерию средней гетерозиготности (табл. 5). Заметно более низкая варибельность отмечалась в породе черная тихорецкая (H¹=0,36). Отчасти, это можно объяснить ограниченным числом индюков-производителей, используемых в племенной работе с этой птицей, при этом сужается генетическое разнообразие в породе. Наивысший уровень генетического разнообразия (H¹=0,63) отмечался в серебристой северокавказской породе, что дает потенциал более эффективной селекционной работы с этой породой в будущем, так как в ней одновременно имеются разнообразные варианты. Относительно высокое разнообразие при-

Таблица 5. Число аллелей на один локус и уровни средней гетерозиготности в 4 породах индеек

Породы индеек	n	Число локусов	Число аллелей	Число полиморфных локусов	H ¹	H ²	H ³
Московская белая	10	16,58	3,08	0,76	0,48	0,56	0,52
Серебристая северокавказская	11	15,83	3,92	1,00	0,63	0,73	0,68
Узбекская палевая	11	17,07	3,93	0,94	0,60	0,70	0,65
Черная тихорецкая	11	21,46	2,61	0,58	0,36	0,41	0,39

H¹ - средняя гетерозиготность по Stephens (1992); H² - скорректированное значение средней гетерозиготности по Stephens (Rogstad & Pelican, 1996); H³ - средняя гетерозиготность по Jin & Chakraborty (Rogstad & Pelican, 1996).

Таблица 6. Гетерозиготность в линиях и породах индеек

Породы индеек	n	Число локусов	Число аллелей	Число полиморфных локусов	H ¹	H ²	H ³
Белая широкогрудая (O ₂)	8	17,35	2,82	0,77	0,47	0,57	0,52
Белая широкогрудая (O ₄)	10	16,15	3,41	0,88	0,58	0,67	0,63
Бронзовая северокавказская	10	17,93	3,18	0,72	0,44	0,52	0,48
Белая северокавказская	9	18,13	2,92	0,89	0,52	0,63	0,58

H¹ - средняя гетерозиготность по Stephens (1992); H² - скорректированное значение средней гетерозиготности по Stephens (Rogstad & Pelican, 1996); H³ - средняя гетерозиготность по Jin & Chakraborty (Rogstad & Pelican, 1996).

сутствует также у узбекской палевой породы.

Анализ по критерию средней гетерозиготности другой группы пород и линий (табл. 6) указал на относительное генетическое разнообразие у линии O₄ белой широкогрудой породы (H¹=0,58); в то же время, индейки бронзовой северокавказской породы не отличались высоким разнообразием (H¹=0,44).

Заключение. Результаты проведенной генетической экспертизы 7 отечественных пород индеек СГЦ «СКЗСП» указывают на достоверность их происхождения и отсутствие генетических аномалий.

Установлено наличие специфических фрагментов ДНК у отдельных пород; даже линии одной породы - белой широкогрудой - имели такие фрагменты.

Выявлено значительное генетическое расстояние черной тихорецкой породы от других пород. Генетически удалены друг от друга белая широкогрудая порода, линия O₂ и белая северокавказская порода (D=0,140). Самыми близкими оказались породы бронзовая северокавказская и белая северокавказская (D=0,060).

Наиболее низкие значения внутривидового разнообразия отмечены в черной тихорецкой породе (BS¹=0,65). Максимальное разнообразие отмечалось у индеек серебристой северокавказской породы (BS¹=0,45) и белой широкогрудой породы, линии O₄ (BS¹=0,48).

Работа по сохранению и разведению существующих пород индеек, поиску новых пород для расширения генофонда будет продолжаться. Генофонд индеек является

настоящим ценным достоянием страны в области индейководства.

Работа была поддержана бюджетным государственным финансированием (№ гос. рег. НИОКТР АААА-А18-118011190133-1).

Литература

1. Селекционно-племенная работа в птицеводстве / Ройтер Я.С., Егорова А.В., Коноплева А.П. [и др.]. - Сергиев Посад: ВНИТИП, 2016. - 287 с.
2. Наставления по сохранению и использованию биоресурсной коллекции индеек отечественной селекции / Селионова М.И., Шинкаренко Л.А., Медведев М.И. [и др.]. - Обильное: СГЦ «СКЗОСП», 2017. - 35 с.
3. Наставления по сохранению и использованию биоресурсной коллекции сельскохозяйственной птицы / Ройтер Я.С., Егорова А.В., Коршунова Л.Г. [и др.]. - Сергиев Посад: ВНИТИП, 2018. - 129 с.
4. Минсельхоз России. Приказ №738 от 31 декабря 2019 г. Об определении

видов организаций по племенному животноводству и внесении изменений в приказы Минсельхоза России. М., 2019.

5. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Том 2. Породы животных. - М., 2016.
6. Grunder A. Estimates of relatedness and inbreeding in goose strains from DNA fingerprints / A. Grunder, M. Sobour, J. Gavora // Anim. Genet. - 1994. - V. 25. - P. 81-88
7. Zhu J. Relationship between band sharing levels of DNA fingerprints and inbreeding coefficients and estimation of true inbreeding in turkey lines / J. Zhu, K.E. Nestor, Y. Moritsu // Poult. Sci. - 1998. - V. 77. - P. 802-807.
8. Weigend S. Current strategies for the assessment and evaluation of genetic diversity in chicken resources / S. Weigend, M.N. Romanov // World's Poult. Sci. J. - 2001. - V. 57, No 3. - P. 275-288.
9. Шинкаренко Л.А., Погодаев В.А. Выве-

дение новых отечественных генотипов индеек и их использование для получения экологически чистой продукции. - Ставрополь, 2014.

10. Беленький Ю.В. Инвентаризация, оценка и анализ современного состояния отечественного генофонда индеек / Ю.В. Беленький, Л.А. Шинкаренко, Н.Г. Щербакова, Я.С. Ройтер // Птица и птицепродукты. - 2017. - №1. - С. 58-60.
11. Беленький Ю.В. Популяционно-генетические особенности индеек генофонда отечественной селекции / Ю.В. Беленький, Л.А. Шинкаренко, Н.Г. Щербакова, В.П. Терлецкий // Птица и птицепродукты. - 2017. - №2. - С. 50-52.

Для контакта с авторами:
Шинкаренко Лидия Александровна
E-mail: skzospzooteh@yandex.ru
Терлецкий Валерий Павлович
Тыщенко Валентина Ивановна
E-mail: valeriter@mail.ru



The Genetic Variance in Seven Turkey Breeds from the Gene Pool of the Center for Genetics & Selection "North-Caucasian Zonal Experimental Station for Poultry"

Shinkarenko L.A.¹, Terletsky V.P.², Tyshchenko V.I.²

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 study was aimed at the analysis of seven turkey breeds from the gene pool of the Center for Genetics & Selection "North-Caucasian Zonal Experimental Station for Poultry" using DNA fingerprinting and methods of population genetics to reconfirm the maintenance of specific traits within these breeds. Coefficients of the genetic similarity within (BS^1) and between the breeds (BS^2) were determined using Gelstat® software; the genetic distances (D) between the breeds and average heterozygosity (H) were calculated. The results evidenced the authentic origins of all breeds and the absence of genetic abnormalities. The specific DNA fragments was found in certain breeds and lines. Black Tikhoretskaya breed was found to be the most distant from all other breeds indicating the long-term genetic isolation of this breed and the absence of inter-breed crossings; it was further confirmed by the lowest intra-breed diversity ($BS^1=0.65$) and average heterozygosity ($H^1=0.36$). The highest levels of intra-breed diversity was found in Silver North-Caucasian breed ($BS^1=0.45$) and in line O_4 of White Wide-Breasted breed ($BS^1=0.48$). Bronze North-Caucasian and White North-Caucasian were found to be the closest ($D=0.060$) while Silver North-Caucasian and Uzbek Fauve breeds had the highest coefficient of inter-breed similarity ($BS^2=0.43$). The data obtained evidenced the effectiveness and intensiveness of the selection of the breeds studied.

Key words: turkey breeds, DNA fingerprinting, genetic distance, coefficient of genetic similarity, specific DNA fragments, heterozygosity.