

MLPH, который затрагивает процессы промежуточного обмена свободных аминокислот и их метаболитов в их клетках.

Выявленные метаболические особенности у исследованных групп норок являются основой для дальнейшего изучения влияния различных генетических аномалий на обменные процессы ключевых низкомолекулярных эндогенных соединений в животной клетке.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Колдаева, Е. М. Научные аспекты совершенствования хозяйственно полезных признаков пушных зверей: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.02.03 / Е. М. Колдаева. – Родники, 2005. – 48 с.
2. Алферова, О. О. Плодовитость норок разных генотипов по окрасу: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.02.01 / О. О. Алферова. – Санкт-Петербург, 2004. – 28 с.
3. Берестов, В. А. Ферменты крови пушных зверей / В. А. Берестов, Л. К. Кожевникова. – Л.: Наука, 1981. – 184 с.
4. Кижина, А. Г. Морфофункциональные особенности лейкоцитов крови и костного мозга норок: *Mustela vison* Schr.: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01 / А. Г. Кижина. – Петрозаводск, 2011. – 22 с.
5. МВИ.МН 3201-2009 «Определение содержания свободных аминокислот и их производных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии» / Л. И. Нефедов, А. А. Глазев, Е. М. Дорошенко. – Гродно, ГрГУ им. Я. Купалы, 2009. – 18 с.

УДК 636.2.034.636.087.7

### ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КУР ОТЕЧЕСТВЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ ПО ГЕНУ ГОРМОНА РОСТА (GH) И ПРОЛАКТИНА (PRL)

**В. Ю. Горчаков<sup>1</sup>, А. И. Киселев<sup>2</sup>, С. В. Жогло<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,

г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by);

<sup>2</sup> – РУП «Опытная научная станция по птицеводству»

г. Заславль, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 223036,

г. Заславль, ул. Юбилейная, 2а; e-mail: onspitisa@tut.by)

**Ключевые слова:** гены, генотип, куры, гормон роста, пролактин, продуктивность.

**Аннотация.** Разработаны и адаптированы методики, позволяющие определить и изучить полиморфизм гена гормона роста и гена пролактина у кур отечественной селекции яичного направления продуктивности. Результаты исследований показали, что в линиях кур по гормону роста (GH) имеются генотипы AA – 46,43 %; AB – 32,14 %; BB – 3,57 %; CC – 10,71 %; AC – 1,43 %; а в линиях кур по гормону пролактину (PRL) встречаются генотипы CC – 52 %, CT – 34 %, TT – 14 %. Более высокими продуктивными показателями обладали куры с генотипом CC по гормону пролактина (PRL) и с генотипом AA по гормону роста (GH).

## GENOTYPING HENS OF DOMESTIC SELECTION ON GENE GENERAL (GH) AND PROLANTIN (PRL)

V. Yu. Gorchakov, A. I. Kiselev, S. V. Joglo

1 – EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Terreshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by);

2 – RUE «Experimental scientific station of poultry breeding»

Zaslavl, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 223036, Zaslavl, 2a Ubileinaya st.; e-mail: onsptitsa@tut.by)

**Key words:** genes, genotype, hens, growth hormone, prolactin, productivity.

**Summary.** *Methods have been developed and adapted to determine and study the polymorphism of the Gene General and Prolantin gene in chickens of the domestic selection of the egg direction of productivity. The research results showed that in the lines of chickens along the growth hormone (GH) there are AA genotypes – 46,43 %; AB – 32,14 %; BB – 3,57 %, SS – 10,71 %; AS – 1,43 %; and in the lines of chickens along the hormone prolactin (PRL) there are SS genotypes – 52 %, ST – 34 %, TT – 14 %. High productive indicators were possessed by chickens with the SS genotype on the hormone prolactin (PRL) and with the AA genotype on growth hormone (GH).*

*(Поступила в редакцию 02.06.2023 г.)*

**Введение.** Цель промышленного птицеводства заключается в производстве большого количества яиц высокого качества с низкими затратами труда и кормовых средств. Именно поэтому на сегодняшний день так актуален вопрос поиска локусов количественных признаков, связанных с продуктивными признаками как сельскохозяйственных животных, так и птиц. Использование молекулярных маркеров в современной генетике позволяет значительно ускорить процесс селекции в сельском хозяйстве как в животноводстве, так и в птицеводстве [1].

Метод генотипирования животных, в частности птицы, по генам, отвечающим за продуктивные качества, является мощным инструментом в селекционной работе. Взаимосвязь полиморфных вариантов генетической изменчивости и их использование в качестве генетических маркеров позволит повысить эффективность селекции кур яичного направления. На протяжении последних 10-15 лет проводятся исследования, направленные на изучение генома кур, выявление и идентификацию вариантов генетического полиморфизма, а также выявление взаимосвязи полиморфных вариантов генетической изменчивости с хозяйственно полезными признаками продуктивности. Неоднократно было доказано, что показатели продуктивности, а также репродуктивные качества животных и птиц напрямую зависят от генетических факторов [2].

В основе геномной селекции лежит изучение полиморфизма целевых генов, аллельные варианты которых связаны с продуктивными качествами животных. Аллельные варианты функциональных генов возникают в результате различных модификаций нуклеотидного состава, таких как точечные мутации (однонуклеотидный полиморфизм, single nucleotide polymorphism SNP), инсерции / делеции (indel) и т. д. В любом случае выявление полиморфизма и последующее изучение его корреляции с продуктивными признаками служат основой дальнейшей направленной селекции. Наиболее интересен поиск полиморфизма в генах, которые кодируют регуляторные белки, участвующие в контроле роста и дифференцировки, в частности гормоны. В свою очередь, физиологический эффект любого гормона напрямую зависит от его рецептора, что определяет целесообразность изучения полиморфизма генов, кодирующих как сами гормоны, так и их рецепторы [3].

Когда оба аллеля в паре совершенно одинаковы (например, ОО, АА), то такой генотип и его обладатель называются гомозиготным, а когда эти аллели разные (скажем, АО) – гетерозиготным [4].

Поиск взаимосвязи полиморфных вариантов генетической изменчивости с яичной продуктивностью кур и использование их в качестве генетических маркеров позволит повысить эффективность селекции кур яичной направленности. С этой точки зрения в генетике птицы в качестве одного из наиболее перспективного гена-кандидата для изучения полиморфизма и связи аллельных вариантов с продуктивными качествами птицы рассматривают ген гормон роста (GH) и ген пролактин (PRL) [5].

Гормон роста (GH) относится к классу пептидных гормонов с широким спектром регулируемых функций. Так, гормон роста принимает непосредственное участие в регуляции роста и дифференцировки различных типов тканей организма. Гормон пролактин (PRL), являясь пептидным гормоном, оказывает серьезное влияние на обменные процессы в организме млекопитающих и птиц благодаря своей ростовой, анаболической, гипергликемической и лактогенной активности [6].

**Целью исследований** является разработка и адаптация методики, позволяющей определить и изучить полиморфизм гена гормона роста и гена пролактина у кур отечественной селекции яичного направления продуктивности.

**Материал и методика исследований.** Исследования проводились на базе отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» УО «Гродненский государственный аграрный университет». В лаборатории имеется современный генетический анализатор для расшифровки ДНК (3500 Applied Biosystems); ДНК-амплификаторы для

проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР); спектрофотометр Implen Nano Photometer P-Class, позволяющий исследовать сверхмалые объемы образцов (до 0,3 мкл); для анализа концентрации нуклеиновых кислот и белков, скорости роста бактерий, кинетики реакции имеется система гель-документирования GelDoc XR+; приборы для детекции хемилюминесцентных красителей или 2D-гелей высокого разрешения, вестерн-блоттинга, 2D-электрофореза, дот-блоттинга, денситометрии. Все оборудование сертифицировано в Республике Беларусь и соответствует международным стандартам.

В качестве объекта исследований использовали биологический материал, полученный от птицы отечественной селекции яичного кросса кур, несущего яйца с коричневой окраской скорлупы (линии K1, K3 и K4). Для исследований было отобрано 140 проб крови птицы. Кровь отбирали из гребня с помощью скарификатора на стерильную фильтровальную бумагу. ДНК из опытных образцов выделяли с помощью коммерческого набора для очистки ДНК «Арт ДНК». Концентрация выделенных нуклеиновых кислот регистрировалась с помощью спектрананофотометра Implen P330.

Аmplификацию гена гормона роста (GH) проводили с помощью синтетических олигонуклеотидов, имеющих следующую последовательность:

GH – F: 5'- ATCCCCAGGCAAACATCCTC-3';

GH – R: 5'- CCTCGACATCCAGCTCACAT-3'.

ПЦР-программа: «горячий старт» – 4 мин при 94 °С; 35 циклов: денатурация – 1 мин при 94 °С, отжиг – 45 с при 54 °С, синтез – 30 с при 72 °С; достройка – 10 мин при 72 °С.

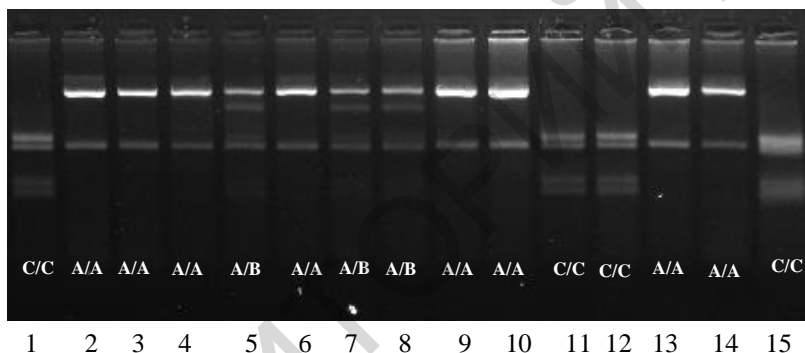
Аmplификацию гена GH проводили с использованием реакционной смеси, объемом 20 мкл, содержащую: 1xTaq-буфер, 0,2 mM dNTP's, 2 mM MgCL<sub>2</sub>, 500-1000 пМ каждого праймера, концентрация Taq ДНК-полимеразы, 1 ед. геномной ДНК.

Продукт амплификации разделяли в 2 % агарозном геле (аналитический метод, применяемый для разделения фрагментов ДНК по длине, основан на разной скорости движения фрагментов разной длины при движении в геле под действием внешнего электрического поля) в течение 50 мин, используя напряжение 110 В.

Дальнейший анализ аллельных вариантов гена проводили с помощью эндонуклеазной рестриктазы MspI. Продукт амплификации расщепляли рекстриктазой, смесь инкубировали при температуре 37 °С в течение 12-16 ч, после чего разделение продуктов рестрикции проводили в 3 % агарозном геле при напряжении 130 В.

Визуализацию полученных результатов проводили с использованием гель-документирующей системы GelDoc XR+, Bio-Rad. Наличие того или иного аллеля определяется присутствием цитозина или тимина в сайте рестрикции. У гена гормона роста (GH) (1-й интрон) возможны три аллеля. Для аллеля А характерно наличие одного сайта рестрикции, для аллеля В – двух, для аллеля С – трех. При расщеплении продуктов амплификации гена гормона роста распознавались следующие генотипы: АА – 539/237 п. н., ВВ – 392/237 и 147 п. н., СС – 267/237/147 и 125 п. н., АВ – 539/392/237 и 147 п. н., АС – 267/237/147 и 125 п. н., ВС – 267/237/147 и 125 п. н.

На рисунке 1 представлена электрофореграмма продуктов рестрикции первого интрона гена гормона роста.



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов рестрикции первого интрона гена гормона роста у кур отечественной селекции; 1-15 – номера лунок (А/А, А/В, С/С – генотипы)

Продуктивные показатели яичной птицы по гену гормона роста (GH) определяли у генотипов АА, АВ и АС.

Полиморфизм гена пролактина определяли по двум показателям – 24 bp (PRL) и 5FA (PRL). Первый показатель определял инсерцию, размером 24 п. н., его определяли сравнительным анализом длины амплифицированных фрагментов при проведении электрофореза; второй показатель – однонуклеотидный полиморфизм – при помощи рестриционного анализа с помощью рестриктазы AluI.

Для амплификации участка гена PRL использовали праймеры:

- PRL24 1: 5'-TTT AAT ATT GGT GGG TGA AGA GACA-3';
- PRL24 2: 5'-ATG CCA CTG ATC CTC GAA AAC TC-3';
- PRL 5FA1: 5'-AGA GGC AGC CCA GGC ATT TTAC-3';
- PRL5FA2: 5'-CCT GGG TCT GGT TTG GAA ATTG-3'.

ПЦР-программа: «горячий старт» – 5 мин при 94 °С; 35 циклов: денатурация – 30 с при 94 °С, отжиг – 30 с при 54 °С, синтез – 30 с при 72 °С; достройка – 5 мин при 72 °С.

Амплификацию гена PRL проводили с использованием реакционной смеси, объемом 20 мкл, содержащую 1x Taq-буфер, 0,2 мМ dNTP's, 2 мМ MgCl<sub>2</sub>, 500-1000 пМ каждого праймера, 0.05 е. а./мкл Taq-полимеразы, 1 ед. геномной ДНК.

Продуктивные показатели яичной птицы по гену пролактина (PRL) определяли у генотипов СС, СТ и ТТ.

**Результаты исследований и их обсуждение.** По результатам оценки Msp-полиморфизма в 1-м интроне гена гормона роста (GH), в изученной популяции кур, имелись особи пяти (из шести возможных) генотипов – АА, АВ, ВВ, СС, АС. Хотелось бы отметить, что в изученной популяции отсутствовали особи с генотипом ВС.

Анализ полиморфизма 140 голов кур отечественной селекции по гену гормона роста (GH) показал, что в линиях кур среди гомозигот встречаются генотипы АА – 49,43 %, АВ – 34,86 %, ВВ – 3,57 %, СС – 10,71 % и АС – 1,43 % (рисунок 2).

Таким образом, у птицы яичного направления наибольшую частоту встречаемости имел гомозиготный генотип АА, наименьшую – генотипы ВВ и АС.

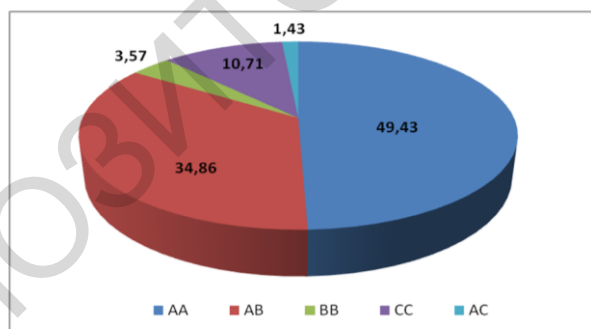


Рисунок 2 – Частота встречаемости генотипов по гену GH, %

Частота встречаемости аллелей GH<sup>A</sup>, GH<sup>B</sup> и GH<sup>C</sup> составила соответственно 0,625; 0,196 и 0,072. При этом в популяции выявлено нарушение генетического равновесия ( $P < 0,01$ ) в сторону преобладания особей с аллелем GH<sup>A</sup>, что связано с проведением преимущественной селекции птицы на увеличение яичной продуктивности.

При анализе полиморфизма в 1-м интроне гена гормона роста в исследуемой популяции кур был найден аллель С в гетерозиготном состоянии (АС), при этом его частота составила 0,072. Следует отметить тот интересный факт, что как таковой аллель С, согласно данным специальной литературы, практически полностью отсутствует в популяциях коммерческих линий, однако присутствует у некоторых аборигенных пород [9].

Анализ полиморфизма кур отечественной селекции по гену пролактина PRL(5FA) показал, что в стаде петухов генотип СС распределен в зависимости от группы от 10 до 100 %, самок – от 10 до 50 %. Гетерозиготный генотип СТ варьировал у самцов в диапазоне от 0 до 42 %, у кур – от 30 до 90 %, носителями генотипа ТТ являлись куры в зависимости от группы в диапазоне от 0 до 14,06 %, лишь в одной группе птицы наблюдалась высокая доля нежелательного аллеля – составило 60 %, у петухов нежелательный генотип варьировал в зависимости от исследуемой группы от 0 до 60 % (рисунок 3).

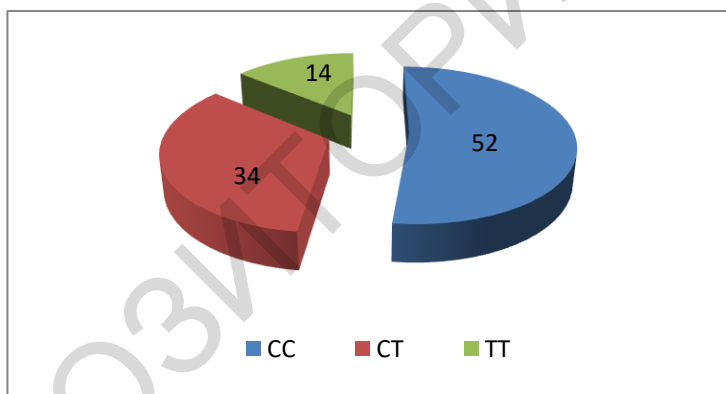


Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов по гену PRL, %

Частота встречаемости аллелей PRL<sup>C</sup> и PRL<sup>T</sup> составила в зависимости от группы у кур от 0,250 и 0,850 соответственно. При этом в популяции выявлено нарушение генетического равновесия ( $P < 0,01$ ) в сторону преобладания особей с аллелем PRL<sup>C</sup>, что связано с проведением преимущественной селекции птицы на увеличение яичной продуктивности.

Продуктивные показатели у кур с разными аллельными вариантами пролактина (PRL) и гормона роста (GH) представлены в таблице.

Таблица – Показатели яичной продуктивности кур с разными аллельными вариантами пролактина (PRL) и гормона роста (GH)

Гено-тип	Продуктивный признак			
	Средняя яйценос-кость $E_{n12}$ , шт.	Средняя яйценос-кость $E_{n40}$ , шт.	Средняя масса яйца $E_{w30}$ , г	Средняя масса яйца $E_{w52}$ , г
PRL				
CC	75,38 ± 2,33**	201,50 ± 8,43	54,80 ± 1,44*	58,57 ± 1,86
CT	67,04 ± 1,34	192,29 ± 3,09	50,95 ± 0,54	57,46 ± 0,60
TT	67,82 ± 1,21**	188,32 ± 3,45	52,25 ± 0,65	59,50 ± 0,82
GH (Mspl)				
AA	67,53 ± 1,05	191,01 ± 2,65	51,63 ± 0,42	58,34 ± 0,57
AB	66,50 ± 3,62	181,79 ± 8,57	51,08 ± 2,81	58,93 ± 2,91
AC	63,00 ± 4,40	171,50 ± 26,05	51,27 ± 2,34	58,94 ± 1,33

*Примечание*

1  $E_{n12}$  и  $E_{n40}$  – число яиц соответственно за 12 и 40 недель про-дуктивного периода;

2  $E_{w30}$  и  $E_{w52}$  – масса яйца соответственно на 30-ю и 52-ю неделю жизни

В соответствии с полученными данными, приведенными в таб-лице, более высокими продуктивными показателями обладали куры с генотипом CC по гормону пролактина (PRL) и с генотипом AA по гор-мону роста (GH).

Так, средняя яйценоскость птицы в возрасте 12 недель у кур с ге-нотипом CC (по гормону пролактина) превышала показатели несущек с генотипом CT на 8,34 шт., или 12,4 %, а с генотипом TT – на 7,56 шт., или 11,1 %; куры с генотипом AA (по гормону роста) превосходили кур с генотипом AB на 1,03 шт., или 1,5 %, и кур с генотипом AC – на 4,53 шт., или 7,2 %. Эта тенденция сохранилась и с увеличением воз-раста птицы. Так, в 40-недельном возрасте куры с генотипом CC превос-ходили по продуктивности кур с генотипом CT на 4,8 % и кур с геноти-пом TT на 7,0 %; куры с генотипом AA превосходили кур с генотипом AB на 5,1 % и кур с генотипом AC на 11,3 %.

Средняя масса 1 яйца у кур с генотипом CC в возрасте 30 недель со-ставила 54,8 г, что на 7,6 % выше по сравнению с показателем, полученным от кур с генотипом CT, и на 4,9 % выше по сравнению с птицей генотипа TT. В возрасте 52 недель более высокой средней массой 1 яйца обладали



куры с генотипом ТТ – 59,5 г, что на 1,6 % выше по сравнению с курами с генотипом СС и на 3,6 % по сравнению с птицей с генотипом СТ.

При изучении изменения средней массы 1 яйца у кур-несушек по гормону роста оказалось, что куры с генотипом АА в возрасте 30 недель превосходили показатели сверстниц с генотипом АВ на 1,07 %, а кур с генотипом АС – на 0,7 %. На 52-ю неделю жизни несушки с генотипами АС и АВ несколько превосходили по средней массе 1 яйца кур с генотипом АА в среднем на 1,0 %.

**Заключение.** В результате проведенных исследований были разработаны и адаптированы методики генотипирования птицы отечественной селекции по гену гормона роста и гену пролактина, позволяющие изучить генетическую структуру птицы, прогнозировать их дальнейшую продуктивность, что позволит при целенаправленной селекции сформировать родительское стадо кур, от которого возможно получение высокопродуктивного потомства.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алтухов, Ю. П. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике / Ю. П. Алтухов, Е. А. Салменкова // Генетика. – 2002. – Т. 38. – С. 1173-1195.
2. The PIG1 gene polymorphisms were associated with chicken growth traits / Q. Nie [et al.] // BMC Genetics, 2008. – С. 20.
3. Кулибаба, Р. А. Полиморфизм генов гормона роста, рецептора гормона роста, пролактина и рецептора пролактина в связи с яичной продуктивностью у кур породы полтавская глинистая / Р. А. Кулибаба // Сельскохозяйственная биология. – Том 50. – № 2. – 2015. – С. 198-207.
4. Что такое гомозиготный и гетерозиготный генотип // [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://unotices.com/answer-u/21172>.
5. Полиморфизм гена пролактина у кур и петухов отечественной селекции / Н.М. Юрага [и др.] // Сборник научных статей по материалам XXIV международной научно-практической конференции «К 70-летию образования университета» (Ветеринария, зоотехния), г. Гродно, 2021. – С. 214-216.
6. Митрофанова, О. В. Полиморфизм в промоторе гена пролактина и его ассоциация с направлением продуктивности у кур / О. В. Митрофанова, Н. В. Дементьева, А. А. Крутикова // Научный журнал КубГАУ. – № 111 (07). – 2015. – С. 4.