

УДК: 636.52/.58.082:575

ГЕНЕТИЧНА ПАСПОРТИЗАЦІЯ ЛІНІЙ ТА ПОРІД КУРЕЙ

Подстрешний О.П., кандидат біологічних наук наук, с.н.с.
Інститут птахівництва УААН

Резюме. Показана важливість генетичної паспортизації ліній і порід птиці, створення банку даних про імпорту птицю з використанням максимальної кількості як фенотипових, так і молекулярно-генетичних маркерів (групи крові, поліморфізм протеїнів яєчного білка), що дозволить виявляти недобросовісних постачальників племінної і товарної птиці і робити свідомий вибір птиці для імпорту. Паспортизація також забезпечить інформацію про темпи створення нових селекційних досягнень і ефективність використаних методів збереження генофонду.

Ключові слова: кури, кроси, генетична структура, генетична паспортизація, маркерні ознаки.

Summary. It is shown the importance of the system of genetic passports of lines and breeds, the creation of the bank of data about import birds with the use of maximum number of both phenotype markers and molecular-and-genetic markers (blood groups, polymorphism of egg white proteins), that allows to reveal suppliers of breeding and commodity birds and to do the conscious selection of birds for importation. The genetic system of passports also provides information about the rate of creation of new selection achievements and the effectiveness of used methods of the gene-pool safety.

Key words: hens, crosses, genetic structure, system of genetic passports, marker features.

Вступ. В кінці минулого століття в птахівництві нашої країни почалось інтенсивне витіснення птиці аборигенних порід і кросів вітчизняної селекції імпортними кросами. Кроси надходять від різних фірм і під різними назвами, але часто по своїй генеалогії вони відрізняються дуже мало або взагалі відрізняються лише найменуванням. Це призводить до остаточного зникнення різноманітності генетичних ресурсів в межах країни і може призвести до масової загибелі птиці в разі виникнення певних форс-мажорних обставин.

З іншого боку, кроси або лінії можуть мати одне найменування, але корінним чином відрізнятись за своєю генетичною структурою. Давно відмічено, що зарубіжні селекційні фірми утримують в резерві значну кількість продуктивних ліній (до кількох десятків). Однак інтенсивно використовуються лише окремі лінії. Якщо в лінії погіршилися деякі показники, то її заміняють іншою, залишаючи за нею назву попередньої. Таким чином, купуючи лінію з

тією ж назвою в тієї ж фірми, можна купити зовсім іншу птицю. Тому виникає нагальна необхідність скласти каталог показників генетичної структури (генетичних паспортів) ліній імпортованих кросів курей, щоб в будь-який час можна було визначити, яку саме птицю закуплено, і визначити особливості роботи з нею.

Для контролю генетичної структури та ступеню генетичної різноманітності порід і ліній птиці, що розводяться або плануються для завезення, необхідне використання адекватних методів виявлення наявного поліморфізму. Рівень гетерозиготності свідчить про перспективність використання конкретної популяції птиці в селекції, а також про можливість популяції відновлювати свою генетичну структуру після виведення її з рівноваги за рахунок дії різних сил.

Для виявлення рівня генетичної внутрішньолінійної гетерогенності та міжлінійної подібності і різноманітності використовують фенотипові ознаки і молекулярно-генетичні маркери. Таку роботу може проводити лабораторія генетичного контролю Інституту птахівництва УААН, яка створена і атестована спільним наказом Міністерства аграрної політики України та Української академії аграрних наук від 29 грудня 2005 року N 766/130. Лабораторія має право видавати офіційний генетичний паспорт лінії (табл.1).

Лабораторія генетичного контролю племінних ресурсів має ліцензію на проведення робіт «Виробництво, збереження і реалізація племінних (генетичних) ресурсів, проведення генетичної експертизи походження і аномалій тварин». В лабораторії наявне необхідне обладнання та реактиви для визначення груп крові курей, поліморфних білкових та ферментних систем різних видів сільськогосподарської птиці. Розроблена форма генетичного паспорта ліній та порід птиці. Генетичний паспорт включає інформацію про набір маркерних ознак, частоту їх прояву, генні частоти алелів поліморфних білкових локусів, рівень гетерозиготності, величину генетичної відстані з іншими лініями (якщо це необхідно), характерних фенотипових ознаках (форма гребеня, забарвлення оперення, плюсни, дзьоба і т.д.).

Таблиця 1.

ГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА (ПАСПОРТ)

Вид птиці _____ порода, лінія _____
 Господарство _____ Дата _____

Частота прояву еритроцитарних антигенів				Генні частоти та рівень гетерозиготності за поліморфними локусами білку яєць			
Антиген	Частота прояву, %	Антиген	Частота прояву, %	Алель, частота			
B ₂	20,0	X ₄₄	0				
B ₃ ^{''}	52,3	C ₂₆	3,6	Ov ^A	0,98	G ₂ ^B	0,72
B ₂ ^{'''}	16,5	A ₁₂	34,7	G ₃ ^A	0,79	Tf ^B	1,00
B ₃ [']	9,8	A ₂₁	28,9	Гетерозиготність			12,6%
X ₂₅	96,3	E ₁	12,2	Фенотипові ознаки			
X ₅₄	14,8	E ₂	82,9	гребінь		листовидний	
X ₆₈	57,5	D ₅	45,1	оперення		червоне	
...	
Генетична відстань з лінією = 0,371							

Розв'язання багатьох проблем генетики і селекції курей тісно пов'язане з використанням адекватних методів оцінки генетичної мінливості та ступеня консолідованості ліній та порід птиці. Використання маркерних ознак (групи крові, поліморфізм протеїнів білка яєць) в практичній селекції птиці дає можливість:

- визначати генетичну характеристику кожної лінії, породи, кросу курей;
- виявляти ступінь генетичної різноманітності курей, що розводяться, їх подібність або відмінність від інших генетичних форм, розрахувати величину генетичної відстані або подібності з усіма порівнюваними популяціями;
- проводити визначення ступеню ідентичності різних партій заводу птиці от одного підприємства, фірми та рівень генетичної подібності партій курей при умові придбання птиці одного і того ж кросу з різних фірм;
- вивчати динаміку генетичної структури птиці протягом ряду поколінь селекції і за мікролініями;
- визначати рівень генетичної консолідації і диференціації селекціонованих ліній, порід курей, ступінь внутрішньопопуляційної різноманітності;
- виявляти зміни генетичної структури в зв'язку з напрямком селекції, при використанні різних селекційних підходів;
- визначати точність племінних записів, проводити генетичну експертизу походження;

- розшифровувати походження нащадків при осіменінні курей змішаною спермою двох-трьох півнів, підвищувати точність племінної оцінки плідників;
- прогнозувати гетерозисну поєднуваність ліній курей з точністю до 92,5%;

Матеріал та методика. Для створення генетичного паспорту використовують різні класи маркерних ознак. В нашій роботі в якості маркерів використані еритроцитарні антигени (групи крові), поліморфні локуси протеїнів яєчного білка, які визначались за раніше відпрацьованими методиками [2,6], а також фенотипові ознаки. Поліморфізм протеїнів яєчного білка вивчався за чотирма локусами, один з яких (Tf) був мономорфний у всіх досліджених групах птиці.

Генетичний паспорт може бути доповнений іншими молекулярно-генетичними маркерами, а також показниками генетичних аномалій ембріонального розвитку. Генетичну відстань за частотою прояву еритроцитарних антигенів обраховували за методом середнього зв'язку [1], а за частотою алелів поліморфних локусів — за методом Nei [7].

Робота проводилась на мікролініях і лініях сріблястих (А) та золотистих (З) леггорнів, породах білий леггорн (БЛ51), червоний род-айленд (РА02, РА38), полтавські глинясті (ПГ14) (табл. 2), материнських формах кросів “Хайсекс білий” і “Хайсекс коричневий”, фінальному гібриді м'ясних курей “Росс 308”.

Результати досліджень. Селекція і розведення птиці в Державному підприємстві “Дослідне господарство “Борки” Інституту птахівництва УААН” проводиться під постійним генетичним контролем. Наприклад, в дев'ятому поколінні створюваної лінії А рівень гетерозиготності в різних мікролініях коливається від 10,4% до 21,1% [5]. В середньому по лінії А гетерозиготність досить висока - 19,5%, що погоджується з її синтетичним походженням (табл.2). Мікролінії в цій лінії за частотою окремих алелів і рівнем гетерозиготності практично не відрізняються від середнього по лінії. Лише в мікролінії А-10, яка істотно відрізняється від інших за забарвленням, гетерозиготність значно нижча (12,4%).

Таблиця 2 - Генетична структура ліній і мікроліній курей

Мікролінія, лінія	Тестовано курей	Локуси, алелі			Гетерозиготність, %
		Ov ^A	G ₃ ^A	G ₂ ^B	
Мікролінії і лінія сріблястих леггорнів (А)					
А-10	58	0,871	0,810	0,871	12,36
А-11	60	0,758	0,825	0,892	19,58
А-12	58	0,836	0,828	0,879	16,81
А-13	60	0,775	0,858	0,868	20,83
А-18	58	0,853	0,767	0,871	21,12
ΣА	294	0,818	0,818	0,876	19,47
Інші породи					
РА02	62	0,976	0,742	0,871	18,95
РА38	48	1	0,74	0,917	14,06
ПГ14	23	1	0,828	0,696	15,22
БЛ51	61	0,984	0,918	0,902	9,84
Гібриди					
02 х А	50	0,94	0,72	0,86	21,00
38 х А	59	0,907	0,686	0,932	17,80
14 х А	14	0,964	0,929	0,929	8,93
Мікролінії і лінія золотистих леггорнів (З)					
З-10	60	0,9	0,875	0,992	10,83
З-11	14	0,929	0,857	1	10,71
З-12	82	0,921	0,890	0,994	9,14
З-15	17	0,912	1	1	4,41
ΣЗ	173	0,913	0,893	0,994	9,39

Примітки. В таблиці наведені частоти лише більш поширених алелів в кожному локусі

Гетерозиготність інших ліній (14, 02, 38) також на досить високому рівні – 14,06-18,9%, і лише в курей породи білий леггорн рівень гетерозиготності значно нижчий (9,84), що пов'язано з генеалогією птиці та інтенсивністю селекції в попередні роки. Гібриди, одержані при використанні плідників різних ліній, за рівнем гетерозиготності значно відрізняються між собою. Найнижча гетерозиготність, приблизно вдвічі нижча, ніж у вихідних ліній, у гібрида 14 х А. Можливо, це пов'язано з невеликою кількістю тестованих курей або з ефектом родоначальника.

Мікролінії золотистого леггорну і лінія в цілому мають значно нижчу гетерозиготність (4,4-10,8%). Особливий інтерес для подальшої роботи представляє мікролінія З-15, яка має гетерозиготність 4,4 та добре поєднується з деякими іншими лініями. Істотно відрізняється характер поліморфізму в лініях А і З. Основний вклад у внутрішньолінійну гетерогенність сріблястих леггорнів вносить локус овальбумінів, а золотистих – овоглобуліновий локус G3.

Збереження генофонду проводиться під постійним генетичним контролем. Початкові і кінцеві результати такого контролю на 10 генофондних породах наведені в таблиці 3. Показано початкове та кінцеве поголів'я в породах курей і рівень гетерозиготності. Як видно з таблиці, поголів'я істотно збільшилось, а рівень гетерозиготності залишився незмінним або змінився несуттєво. Це свідчить, що не дивлячись на дуже мале початкове поголів'я в деяких породах, використані методи розведення не привели до гомозиготації і пониження життєздатності птиці [3]. Межі генетичних відстаней кожної породи з іншими в більшості випадків зменшились. Якщо у вихідному поколінні величина генетичних відстаней між різними породами коливалась в межах 0,169-0,472, то в десятому поколінні розведення ці межі склали 0,136-0,367. Різниця в показниках між порівнюваними парами складала відповідно 100-236 і 87-197.

Таким чином, утримання птиці протягом 11 поколінь в однакових умовах з використанням подібних методів розведення відбувається деяке зближення генетичної структури порід, однак різниця між породами залишається на досить високому рівні.

Таблиця 3 - Динаміка чисельності поголів'я і генетичної структури в досліджених породах курей

Код породи	Початкове і кінцеве поголів'я квіней		Початкова і кінцева ефективна чисельність		Рівень гетерозиготності, %%		Межі генетичної відстані з іншими породами за частотою еритроцитарних антигенів	
	F0	F10	F0	F10	F0	F10	F0	F10
90	108	582	101	256	9,6	9,0	0,226-0,458	0,148-0,235
91	156	455	156	199	16,8	20,3	0,290-0,472	0,200-0,361
92	32	383	33	145	19,9	14,8	0,214-0,376	0,137-0,303
93	28	183	11	129	16,7	22,9	0,244-0,344	0,136-0,264
97	45	430	45	173	22,5	20,9	0,172-0,335	0,179-0,308
98	470	235	259	137	20,7	21,7	0,169-0,307	0,179-0,361
99	118	238	89	107	17,2	19,2	0,169-0,343	0,170-0,367
100	3	262	3	139	6,8	19,2	0,290-0,458	0,198-0,367
101	10	434	7	192	18,5	21,8	0,172-0,317	0,187-0,331
102	14	494	10	227	23,3	21,8	0,190-0,426	0,136-0,280

У зв'язку з масовим завозом імпортової птиці від різних виробників постає необхідність її ідентифікації шляхом порівняльного аналізу генетичної структури за набором та частотою маркерних ознак, рівнем гетерозиготності, величиною генетичної відстані між лініями. Можливо, під одним іменем фірми реалізують зовсім різну птицю або навпаки – під різними іменами одну і ту. Особливо важливо це знати в разі купівлі племінної птиці.

В цьому плані цікаві дані одержані при паспортизації 5 популяцій бройлерів кросу “Росс-308”, завезених в одне з господарств Російської Федерації) в різні строки від різних постачальників. Показано, що лише дві популяції (4 і 5) подібні між собою за частотою більшості еритроцитарних антигенів, а інші три вірогідно відрізняються за частотою стрічання більшості антигенів як від 4 і 5-тої популяції, так і між собою. За величиною генетичної відстані 1, 2 і 3-тя популяції відрізняються незначно ($d = 0,135-0,172$), що практично однакове з відстанню між 4 і 5-тою групами (0,134). Генетична відстань між популяціями 1, 2, 3, з одного боку, і 4, 5, з іншого боку, знаходиться в межах 0,234-0,279, що приблизно в два рази вище, ніж відстань між групами 4 і 5. Очевидно, ці групи бройлерів представляють собою різний генетичний матеріал, що погоджується з результатами їх вирощування. Темп росту цих партій птиці був різним і в деяких випадках спостерігалась значна нерівномірність росту.

Таблиця 4 - Величина генетичної відстані між тестованими групами птиці кросу «Росс-308»

Група птиці	1	2	3	4	5
1	-	0,157	0,172	0,240	0,249
2		-	0,135	0,249	0,234
3			-	0,279	0,275
4				-	0,134
5					-

В одному з дослідів вивчено поліморфізм протеїнів яєчного білка курей кросів “Хайсекс білий” (ХБ) і “Хайсекс коричневий” (ХК), завезених в Державне підприємство “Навчально — дослідний племптахозавод ім. Фрунзе НАУ” з голландської фірми “Хендрікс Роултри Брідерс” [4]. Завіз птиці здійснювали двічі: у 2003 році були завезені прабатьківські форми (кури ліній В і D та півні А і С) та батьківські (кури материнської форми CD і півні АВ) кросу “Хайсекс білий”; у 2005 — батьківські форми кросів “Хайсекс білий” і “Хайсекс коричневий”. Дослідження птиці першого завозу проведено в 2004 році, а другого — 2006 році.

За розподілом фенотипів в 3 поліморфних локусах (O_v , G_3 , G_2) прабатьківські і батьківські форми значно відрізнялись, особливо лінії В і D (табл.5). Так, в лінії В поліморфний лише локус G_2 і більш поширена гомозигота ВВ виявлена у 60% особин. В лінії D в локусах O_v , G_3 , G_2 гомозигот за більше поширеними алелями зустрічається відповідно 53,3%, 79,2%, 55,0%. Серед курей материнської форми CD (завіз 2003 року) гомозиготи за даними алелями виявлені в кількості 83,3%, 98,9%, 83,3%, тобто за генетичною структурою материнська форма фінального гібрида істотно відрізняється від прабатьківської лінії D. Оскільки за поліморфізмом протеїнів яєчного білка лінію С, при наявності лише півнів, тестувати неможливо, можна припустити,

що це наслідок гомозиготності батьківської лінії за алелями Ov^*A , G_3^*A , G_2^*B або форма CD одержана від іншої лінії D, яка була більш гомозиготною, ніж досліджена нами.

Таблиця 5 - Розподіл фенотипів за поліморфними локусами в досліджених групах птиці

Вік птиці, тижні	Пташник	Кількість яєць	Локуси, фенотиби								
			Ov			G ₃			G ₂		
			AA	AB	BB	AA	AB	BB	AA	AB	BB
Крос "Хайсекс білий"											
B, 2004		60	60	0	0	60	0	0	6	18	36
D, 2004		120	64	46	10	95	24	1	8	46	66,
CD, 2004		90	75	15	0	89	1	0	2	13	75
CD, 2006		178	139	39	0	149	29	0	14	81	83
Крос "Хайсекс коричневий"											
CD, 2006		180	180	0	0	13	70	97	80	76	24

Материнська форма CD кросу "Хайсекс білий" заводу 2005 року мала значно менший відсоток гомозигот за відповідними алелями — 78,1%, 83,7%, 46,6%. Особливо велика різниця за локусом G_2 , яка складає 36,7%. В той же час гетерозигот G_2^*AB серед птиці заводу 2003 року зустрілось лише 13 голів (14,4%), а серед птиці заводу 2005 року — 81 особина, або 45,5 %. Гетерозигот AB за локусом G_3 виявлено відповідно 1 (1,1%) і 29 (16,3%).

Порівняння батьківських форм кросу "Хайсекс білий" різного заводу за частотами алелів G_3^*A , G_2^*B і рівнем гетерозиготності виявило статистично значиму різницю при $P < 0,001$ (табл.6). Наслідком описаної вище великої різниці в розподілі фенотипів у материнської форми різного заводу стала в 2,59 рази вища гетерозиготність при дослідженнях в 2006 році — відповідно 8,06% і 20,9%. Не виключено, що батьківські форми кросу "Хайсекс білий" різного заводу представляють собою різний генетичний матеріал.

В цьому досліді було проаналізовано кілька різновікових груп птиці. В таблиці 7 за позначенням лінії або материнської форми наведено вік птиці в тижнях. Між птицею різного віку кросів "Хайсекс білий" і "Хайсекс коричневий" генетична відстань складає всього 0,44 і 0,7 відповідно, а з середнім по материнській формі цей показник знаходиться в межах 0,11- 0,18. Генетична відстань між материнською формою заводу 2003 року і групами заводу 2005 року більша в 2,2-24,6 рази (0,97-2,71), що також свідчить про різницю в їх генетичній структурі.

Таким чином, визначення генетичної структури навіть за одним класом маркерів дозволяє виявити невідповідність офіційної генеалогії і реального стану справ. Якщо такі дослідження будуть проводитись систематично, то буде можливість встановити істинну генеалогію птиці.

Таблиця 6 - Частота алелів поліморфних локусів і рівень гетерозиготності птиці

Лінія, гібрид, рік дослідження	Кіль- кість яєць	Локуси, алелі						He, %
		Ov		G ₃		G ₂		
		A	B	A	B	A	B	
Крос “Хайсекс білий”								
B, 2004	60	1,0 ^a	0	1,0 ^a	0	0,25	0,7 ^a	7,5 ^a
D, 2004	120	0,725 ^b	0,275	0,892 ^b	0,108	0,258	0,742 ^{ab}	24,2 ^b
CD, 2004	90	0,917 ^b	0,083	0,994 ^a	0,006	0,094	0,096 ^b	8,1 ^a
CD, 2006	178	0,89 ^b	0,11	0,918 ^b	0,082	0,306	0,694 ^b	20,9 ^b
Крос “Хайсекс коричневий”								
CD, 2006	180	1,0 ^a	0	0,268 ^b	0,733	0,656	0,344 ^г	20,3 ^b

Птиця кросу “Хайсекс коричневий” майже за всіма показниками генетичної структури статистично значимо відрізняється від птиці кросу “Хайсекс білий”, що погоджується з генеалогією цієї птиці. Генетична відстань між групами птиці цих кросів на 2 порядки вища, ніж між групами усередині кросів.

Таблиця 7 - Генетична відстань між дослідженими лініями і кросами курей

Кроси Лінія, гібрид вік	“Хайсекс білий”					“Хайсекс коричневий”		
	2004 рік		2006 рік			2006		
	D39 39 тиж	CD39 39 тиж	CD42 42 тиж	CD58 58 тиж	CDXB сума	CD36 36 тиж	CD49 49 тиж	CDXK сума
V39	2.99	1.18	0.45	0.92	0.57	35.94	32.68	34.29
D39	-	2.27	1.17	1.69	1.32	37.04	33.79	35.39
CD39		-	0.97	2.71	1.72	45.01	40.98	43.00
CD42			-	0.44	0.11	33,78	30,62	32,18
CD58				-	0.11	28.23	25.59	26.89
CDXB					-	30.86	27.97	29.40
CD36						-	0.70	0.17
CD49							-	0.18

Висновки

1. Таким чином, селекцію птиці і збереження генофонду доцільно проводити під генетичним контролем, що забезпечує інформацію про темпи створення нових селекційних досягнень і ефективність використаних методів збереження порід птиці.
2. Генетична паспортизація і створення банку даних про імпортувану птицю з використанням максимальної кількості як фенотипових, так і молекулярно-генетичних маркерів (групи крові, поліморфізм протеїнів яєчного білка) дозволить виявляти недобросовісних постачальників племінної і товарної птиці і робити свідомий вибір птиці для імпорту.

Список літератури

1. Дерябин В.Е. Многомерная биометрия для антропологов [Текст] / В.Е. Дерябин. - М.: Изд-во МГУ, 1978. - 266 с.
2. Иммуногенетический контроль за ходом селекции линий и популяций птицы [Текст]: методические рекомендации / А.П. Подстрешный; Институт птицеводства УААН. - Харьков, 1990. - 24 с.
3. Подстрешный О.П. Використання маркерних ознак при розробці методів збереження генофонду птиці [Текст] / О.П. Подстрешный // Птахівництво: Міжвід. тем. наук зб./ ІП УААН. - Харків, 2004. - Вип. 55. - С. 92-105.
4. Подстрешный О.П. Генетична характеристика двох кросів яєчних курей [Текст] / О.П. Подстрешный, І.Я. Статнік // Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. / ІП УААН. - Харків, 2007. - Вип. 59. - С. 97-107.
5. Подстрешный О.П. Порівняльна характеристика генетичної структури ліній та гібридів яєчних курей [Текст] / О.П. Подстрешный, І.О. Подстрешна, Ю.С. Лютий // Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб./ ІП УААН. - Харків, 2007. - Вип. 60, Ч. 1. - С. 130-139.
6. Электрофоретический анализ белков сельскохозяйственной птицы [Текст]: методические рекомендации / П.И. Кутнюк, В.А. Волохович, И.Г. Моисеева; Институт птицеводства УААН. - Харьков, 1986.- 32 с.
7. Nei M. Genetic distance between populations / M. Nei. // Amer. Natur. - 1972. - V. 106. – P. 283-292.