

## ПОЛІМОРФІЗМ ЛОКУСІВ MSTN ТА INS У ЗВ'ЯЗКУ З ПОКАЗНИКАМИ ЖИВОЇ МАСИ М'ЯСО-ЯЄЧНИХ КУРЕЙ

**Л. В. Шуліка**, молодший науковий співробітник  
Науковий керівник – **Р.О. Кулібаба**, канд. с.-г. наук, с.н.с.  
Інститут тваринництва НААН

*Проаналізовано показники живої маси курей лінії Г2 у віці 17, 21 та 27 тижнів залежно від генотипів за локусами MSTN та INS. Жива маса курей на 21-й тиждень життя виявилася достовірно вищою ( $p \leq 0,05$ ) у гетерозигот AG порівняно з гомозиготами GG за мутацією MSTN G2109A на 8,1 %; з середньопопуляційним значенням – на 5,3 %. За мутацією INS A+3971G достовірних відмінностей не виявлено.*

**Ключові слова:** ген інсуліну, ген міостатину, поліморфізм, молекулярно-генетичний маркер, рестрикція, жива маса, кури.

**Постановка проблеми.** З огляду на наявну тенденцію до зростання попиту на продукцію птахівництва, відмічену у прогнозі FAO [1], а також на місце птахівництва в економіці України [2], слід засвідчити необхідність інтенсифікації процесу виробництва курячих м'яса та яєць, як найбільш затребуваного споживачем виду птахівничої продукції. Птиця вітчизняної селекції зазвичай поступається закордонним комерційним кросам за заявленими показниками продуктивності, що зумовлює вибір виробників, особливо промислових, на користь останніх. Проте в дійсності доволі часто продуктивний потенціал птиці закордонної селекції реалізується не повністю внаслідок різниці між місцевими умовами та тими, за яких було проведено селекцію. Перш за все це відмінності кормової бази, недотримання технології утримання; слід враховувати і кліматичні умови, що майже не піддаються контролю з боку людини [3]. Використання локальних ліній та порід, які є добре пристосованими до місцевих умов, може вирішити зазначену проблему. На жаль, в Україні орієнтація на постійне завезення фінальних гібридів закордонних комерційних кросів замість вдосконалення власних племінних ресурсів призвела до занедбання останніх [4]. Наразі підвищення конкурентоспроможності українських ліній курей на ринку може забезпечити лише інтенсивна селекційна робота у напрямку підвищення продуктивних якостей птиці. Одним із сучасних способів підвищення ефективності селекційного процесу є використання молекулярно-генетичних маркерів [5].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Молекулярно-генетичні маркери застосовують у маркер-асоційованій селекції (MAS), основою

якої є виявлення ДНК-поліморфізму і вивчення його зв'язку із продуктивними ознаками тварин, причому в генетиці птиці найбільш перспективними для досліджень є маркери у межах генів, що кодують різні гормони [6]. Відносно підвищення м'ясної продуктивності птиці одними із таких генів є локуси міостатину (MSTN) [7] та інсуліну (INS) [8]. В обох генах виявлено ряд маркерних мутацій (в тому числі тих, що можна аналізувати методом PCR-RFLP – Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism), для яких показано зв'язок між різними алейними варіантами та живою масою курей деяких порід. Серед них мутації G2100A, G2109A, C2373T [9], G2244C [9, 10], rs313744840 [7], 234G>A [11] в локусі MSTN, а також A+428G, C+1549T, T+3737C, A+3971G [12] – у гені INS. У поточній роботі увагу буде зосереджено на мутаціях MSTN G2109A, а також INS A+3971G, оскільки раніше нами було показано їх поліморфність у дослідній популяції.

**Мета досліджень** – провести аналіз показника живої маси курей лінії Г2 породи плімутрок білий залежно від генотипу особин за маркерними мутаціями локусів міостатину та інсуліну.

**Матеріал та методика досліджень.** Дослідження виконано на популяції курей лінії Г2 породи плімутрок білий, м'ясо-яєчного типу продуктивності (бірківські м'ясо-яєчні кури). Птицю (♀) утримували згідно з відповідними рекомендаціями [13] у віварії Державної дослідної станції птахівництва НААН в однакових умовах. Живу масу птиці дослідної групи ( $n=57$ ) вимірювали на 17-й, 21-й та 27-й тижні життя. Окрім цього, від кожної особини

було отримано зразки біологічного матеріалу (кров або перо), які слугували джерелом ДНК.

Генотипи курей визначали в лабораторії молекулярно-генетичних і фізіолого-біохімічних досліджень у тваринництві Інституту тваринництва НААН. ДНК виділяли комерційним набором «ДНК-сорб В» (AmpliSens, RF). Генотипування здійснювали методом PCR-RFLP. Спочатку проводили ампліфікацію цільового фрагменту ДНК, використовуючи у випадку мутації MSTN G2109A олігонуклеотиди, розроблені Ye X. et al [9], а у разі INS A+3971G – праймери, рекомендовані Qiu et al [12]. Для рестрикції в обох випадках використовували фермент MspI (SibEnzyme, RF). Після рестрикції проби переносили на електрофорез в 1,5–3% агарозних гелях з додаванням бромистого етидію.

Алельні варіанти за досліджуваними мутаціями визначали за кількістю фрагментів на електрофореграмі (що була обумовлена наявністю (MspI+) або відсутністю (MspI-) рестрикційного сайту в межах ампліконів), а також їх молекулярною масою. (MspI-) алелі (алелі А для мутацій MSTN G2109A та INS

A+3971G) характеризувались одним фрагментом, що за розміром відповідав ампліконам. (MspI+) алелі (алелі G в обох випадках) являли собою комбінацію з двох фрагментів різних розмірів.

Статистичний аналіз виконували загальновідомими методами, з урахуванням рекомендацій Меркур'євої [14] та Ребрової [15]. Групи курей з різними генотипами порівнювали за допомогою t-критерію Стьюдента, або, якщо розподіл даних не відповідав нормальному, – U-критерію Манна-Уїтні. Перевірку розподілу даних на нормальність здійснювали за критерієм Шапіро-Уїлка. Обчислення виконували у середовищі програми Statistica 8.0 (StatSoft).

**Результати досліджень.** За мутацією G2109A у локусі міостатину у дослідній групі курей опинилось лише 3 особини з генотипом AA, що недостатньо для коректного проведення статистичного аналізу [16], у зв'язку з чим між собою порівнювали лише групи з генотипами AG і GG. Середню арифметичну (M) та похибку середньої арифметичної (m) для обох груп наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

#### Жива маса курей лінії Г2 (♀) залежно від генотипу за мутацією MSTN G2109A

Генотип	Жива маса, кг (M±m)		
	17 тижнів	21 тиждень	27 тижнів
AG (n=20)	1,77±0,069	2,39±0,073 <sup>a</sup>	2,81±0,080
GG (n=34)	1,62±0,046	2,21±0,054 <sup>b</sup>	2,75±0,056

Примітка. Різниця достовірна на рівні  $p \leq 0,05$  для груп, позначених як а і б.

З табличних даних видно, що група особин з генотипом AG у середньому мають вищу живу масу, ніж група курей з генотипом GG, впродовж усього періоду спостереження. Різниця між групами в абсолютних величинах становила 0,15 кг; 0,18 кг та 0,06 кг на 17-й, 21-й та 27-й тижні життя, відповідно. При цьому на 21-й тиждень життя жива маса у гетерозигот виявилась достовірно вищою на рівні  $p \leq 0,05$ , тоді як на 17-й тиждень життя відмінності між групами курей відмічались на рівні тенденції ( $p \leq 0,1$ ), незважаючи на те, що у відсотковому співвідношенні різниця за живою масою курей була більшою на 17-й тиждень, ніж на 21-й (9,3% у порівнянні з 8,1%, відповідно).

Необхідно також відмітити, що достовірну різницю на рівні  $p \leq 0,05$  у віці 21 тиждень виявлено не лише між групами особин з генотипами AG і GG відповідно, але й при порівнянні середнього значення для групи гетерозигот з середнім для всієї популяції. При цьому різниця на 21-й тиждень склала 0,12 кг

(або 5,3 %). У віці 17 і 27 тижнів розбіжності становили 0,11 кг, або 6,6 % (що за величиною майже не відрізняється від даних на 21-й тиждень) і 0,04 кг, або 1,4 %, відповідно, проте статистичної достовірності не мали. У графічному вигляді дані представлено на рисунку.

Окрім цього, при аналізі розподілу величин за показником живої маси на 21-й тиждень життя у популяції в цілому було відмічено його бімодальність, а саме:  $Mo(1) = 2,2$  кг,  $Mo(2) = 2,6$  кг. Для порівняння приведемо значення моди для груп із генотипами GG і AG:  $Mo(GG) = 2,2$  кг;  $Mo(AG) = 2,6$  кг. Як видно, модальні класи співпадають з популяційними. Оскільки у даному випадку дослідна група є однорідною за статтю, віком та лінією, а умови утримання були однаковими, у якості ймовірного пояснення зазначеного явища можна назвати різницю за генотипом у межах лінії.

У той же час, у відповідності з наведеними вище даними, з віком відмінності між особинами

з різними генотипами за мутацією MSTN G2109A стають меншими, що вказує, скоріше, на різницю у швидкості росту. У випадку несучок вища швидкість росту означає більш швидке досягнення стандартної живої маси, коли можна починати стимуляцію яйцекладки за допомогою світлового режиму, що, в свою чергу, опосередковано може призводити до зменшення віку появи першого яйця. Враховуючи, що для дослідної птиці стандартний вік появи першого

яйця становить 150 днів життя [17], тобто ~ 21 тиждень, необхідно відмітити важливість різниці за живою масою курочок саме у даний період. Отже, мутацію MSTN G2109A можна вважати перспективною для використання з метою маркер-асоційованої селекції у напрямку підвищення живої маси курей лінії Г2 у віці 21 тиждень. Бажаним у даному випадку є гетерозиготний генотип AG.

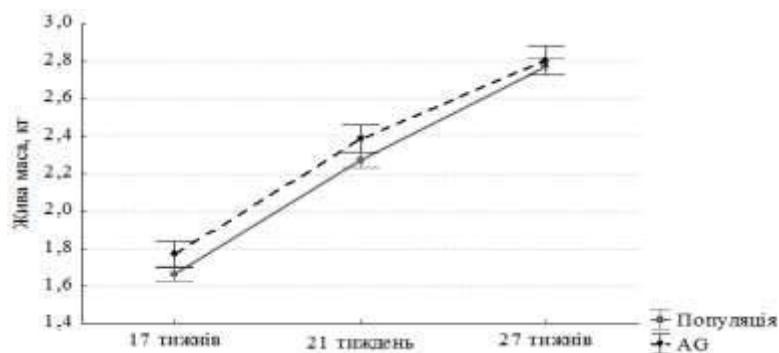


Рис. Динаміка живої маси курей з гетерозиготним генотипом AG за мутацією MSTN G2109A (позначена чорним пунктиром) у порівнянні з динамікою живої маси курей для всієї популяції лінії Г2 (позначена сірою суцільною лінією). Точки з «вусами» позначають середню арифметичну та похибку середньої, відповідно

Що стосується випадку відгодівлі птиці на м'ясо, тут швидкість росту є критичним показником (найбільш скоростиглими є бройлери). За технологією відгодівлю на м'ясо для лінії Г2 рекомендується проводити до віку 12 тижнів [13]. Зважаючи на те, що у поточній роботі проаналізовано динаміку росту у старшому віці, прямих рекомендацій щодо використання для відгодівлі на м'ясо в першу чергу гетерозиготних особин надати не виявляється можливим. Проте, з огляду на отримані нами результати та літературні дані

(праці Ye et al, 2007; Mitrofanova et al, 2017), слід вважати перспективною подальшу розробку питання щодо вивчення динаміки живої маси курей лінії Г2 залежно від поліморфізму за локусом міостатину у більш ранньому віці.

Що стосується MspI-поліморфізму у 3'UTR локусу інсуліну (INS A+3971G), у даному разі аналіз проводили для всіх трьох генотипів, оскільки їх розподіл у популяції виявився більш рівномірним, ніж у попередньому випадку. Інформацію щодо значень показників живої маси за генотипами у різному віці наведено у таблиці 2.

Таблиця 2

Жива маса курей лінії Г2 (♀) залежно від генотипу за мутацією INS A+3971G

Генотип	Жива маса, кг (M±m)		
	17 тижнів	21 тиждень	27 тижнів
AA (n=14)	1,68±0,080	2,30±0,057	2,81±0,088
AG (n=31)	1,69±0,051	2,26±0,061	2,72±0,053
GG (n=12)	1,58±0,087	2,28±0,113	2,87±0,116

Як видно з табличних даних, достовірної різниці між генотипами відмічено не було в жодному випадку. Жива маса курей з генотипами AG і GG на 27-й тиждень відрізнялась на рівні тенденції ( $p \leq 0,1$ ) на 0,15 кг, або 5,5 %, проте цього недостатньо для того, щоб стверджувати про достовірний вплив генотипу.

**Висновки.** У результаті проведених досліджень показано перспективність оцінки

поголов'я птиці локальної лінії Г2 породи плімутрок білий за мутацією MSTN G2109A з метою використання отриманих даних у селекційних програмах із залученням маркер-асоційованої селекції. Зокрема, жива маса курей на 21-й тиждень життя виявилась достовірно вищою на рівні  $p \leq 0,05$  у гетерозигот AG за даною мутацією порівняно з гомозиготами GG на 0,18 кг (або 8,1 %), та у порівнянні з середньо

популяційним значенням – на 0,12 кг (або 5,3 %). Стосовно мутації INS A+3971G відмінностей за показником живої маси між групами курей з різними генотипами не було виявлено впродовж всього періоду спостереження (17-27 тижнів).

#### Список використаних джерел:

1. OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026 / OECD/FAO. – Paris: OECD Publishing, 2017. – 140 p.
2. Бовсунівський В. В. Особливості розвитку ринку продукції тваринництва України / В. В. Бовсунівський // Науково-технічний бюлетень Інституту тваринництва НААН. – 2012. – № 108. – С. 29–36.
3. Пустова Н. В. Селекційно-генетичні та біологічні особливості курей різної селекції : монографія / Н. В. Пустова ; за ред. Й. З. Сірацького та Є. І. Федорович. – Київ : Люксар, 2009. – 152 с.
4. Вертійчук А. І. Стан племінної роботи у птахівництві України. / А. І. Вертійчук // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. – 2010. – №. 3 (72). – С. 149–152.
5. Современные методы генетического контроля селекционных процессов и сертификация племенного материала в животноводстве : учеб. пособие / Н. А. Зиновьева, П. М. Кленовицкий, Е. А. Гладырь, А. А. Никишов. – Москва : РУДН, 2008. – 329 с.
6. Кулібаба Р. О. Використання різних типів молекулярно-генетичних маркерів (PCR-RFLP, Indel) у селекційній роботі з птицею порід Полтавська глиняста та Бірківська барвіста : метод. рекомендації / Р. О. Кулібаба, Ю. В. Ляшенко, П. С. Юрко. – Бірки : ДДСП НААН, 2015. – 18 с.
7. Association of Polymorphic Variants in MSTN, PRL, and DRD2 Genes with Intensity of Young Animal Growth in Pushkin Breed Chickens / O. V. Mitrofanova, N. V. Dementeva, A. A. Krutikova [et al] // Cytology and Genetics. – 2017. – Vol. 51 (3). – P. 179–184.
8. Xu Z. Overview of Genomic Insights into Chicken Growth Traits Based on Genome-Wide Association Study and microRNA Regulation / Z. Xu, Q. Nie, X. Zhang // Current genomics. – 2013. – Vol. 14 (2). – P. 137–146.
9. Associations of myostatin gene polymorphisms with performance and mortality traits in broiler chickens / X. Ye, S. R. Brown, K. Nones [et al] // Genetics Selection Evolution. – 2007. – Vol. 39. – P. 73–89.
10. Связь генотипов по однонуклеотидным заменам в гене миостатина с показателями живой массы у кур Юрловской голосистой породы / О. В. Митрофанова, Н. В. Деметъева, В. И. Тыщенко [и др] // Генетика и разведение животных. – 2015. – № 1. – С. 39–42.
11. Effect of an exon 1 mutation in the myostatin gene on the growth traits of the Bian chicken / G. X. Zhang, X. H. Zhao, J. Y. Wang [et al] // Animal Genetics. – 2012. – Vol. 43 (4). – P. 458–459.
12. Association of Single Nucleotide Polymorphisms of the Insulin Gene with Chicken Early Growth and Fat Deposition / F. F. Qiu, Q. H. Nie, C. L. Luo [et al] // Poultry Science. – 2006. – Vol. 85. – P. 980–985.
13. Вирощування, утримання та годівля яєчних та м'ясо-яєчних курей : наук.-практ. посібник / О. О. Катеринич, С. М. Панькова, О. В. Терещенко [та ін]. – Бірки : ДДСП НААН, 2017. – 64 с.
14. Меркурьева Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е. К. Меркурьева. – Москва: Колос, 1977. – 240 с.
15. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – Москва: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
16. Белая Е. В. Оценка ассоциации полиморфных генов соматотропинового каскада с уровнем продуктивности крупного рогатого скота / Е. В. Белая, М. Е. Михайлова // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2014. – № 4. – С. 36–42.
17. Розведення, вирощування та утримання бірківських м'ясо-яєчних курей : рекомендації по розведенню / Катеринич О.О., Рябоконт Ю.О., Бондаренко Ю.В. [та ін]. – Бірки, 2005. – 52 с.

#### **Л. В. Шулика. Поліморфізм локусів MSTN и INS в зв'язі з показателями живої маси м'ясо-яєчних кур.**

*Проаналізовані значення живої маси кур лінії G2 в віці 17, 21 і 27 тижнів в залежності від генотипів по локусам MSTN и INS. Жива маса кур на 21-ю тижень життя показала достовірно вищу (p<0,05) у гетерозигот AG в порівнянні з гомозиготами GG по мутації MSTN G2109A на 8,1 %; до середньопопуляційного значення – на 5,3 %. По мутації INS A+3971G достовірних різниць не виявлено.*

**Ключевые слова:** ген інсуліна, ген миостатина, поліморфізм, молекулярно-генетичний маркер, рестрикція, жива маса, кури.

#### **L. Shulika. Polymorphism of MSTN and INS loci in connection with live weight indexes of chickens.**

*Chickens live weight values of line G2 in the age of 17, 21 and 27 weeks of life depending on the genotypes of MSTN and INS loci was analyzed. Chickens live weight on the 21th week of life was reliably higher (p<0,05) for AG heterozygotes comparing to GG homozygotes of MSTN G2109A mutation on 8,1 %; to population mean value – on 5,3 %. There were no significant differences for INS A+3971G mutation.*

**Key words:** insulin gene, myostatin gene, polymorphism, molecular genetic marker, restriction, live weight, chickens.