

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ГОРМОНА РОСТА У ПЕТУХОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ЛИНИИ КЗ

Горчаков Владимир Юрьевич

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

POLYMORPHISM OF THE GROWTH HORMONE GENE IN ROCKERS-PRODUCERS OF THE DOMESTIC LINE K3

Gorchakov V.Y.

Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor

EI "Grodno State Agrarian University"

Grodno, Republic of Belarus

Аннотация. В статье приведены результаты по генетическому разнообразию гена гормона роста (GH) у петухов-производителей отечественной селекции линии КЗ яичного направления продуктивности. На основании анализа полиморфизма гена гормона роста (GH) установлено, что 50,26% производителей несут гомозиготный генотип GH^{AA} , 40,31% имели гетерозиготный генотип GH^{AB} , у 7,86% выявлен гомозиготный генотип GH^{CC} , 1,05% имели гетерозиготный генотип GH^{BC} и 0,52% являлась носителем гомозиготного генотипа GH^{BB} . По гену GH выражено преимущество аллеля А над аллелями В и С.

Annotation. The article presents the results on the genetic diversity of the growth hormone (GH) gene in domestic breeding roosters of the K3 line for egg production. Based on the analysis of growth hormone (GH) gene polymorphism, it was found that 50,26% of producers carried the homozygous GH^{AA} genotype, 40,31% had the heterozygous GH^{AB} genotype, 7,86% had the homozygous GH^{CC} genotype, 1,05% had the heterozygous GH^{BC} genotype and 0,52% were carriers of the homozygous genotype GH^{BB} . For the GH gene, the advantage of allele A over alleles B and C is expressed.

Ключевые слова: Гены, гормон роста, генотип, аллель, петухи-производители.

Key words: genes, growth hormone, genotype, allele, breeding roosters.

Введение. 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 [1].

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 [2].

Гормон роста (соматотропный гормон, СТГ, соматотропин, соматропин) – по химической структуре относится к пептидным гормонам. Синтезируется соматотропными клетками передней доли гипофиза – аденогипофизом. У птиц ген гормона роста является одним из важнейших генов-кандидатов, который непосредственно влияет на продуктивность – живую массу, яйценоскость, массу яиц и т.д. [3].

Эффективность действия гормона роста напрямую зависит от его рецептора (GHR) – трансмембранного белка. Активация рецептора гормона роста приводит как к изменениям в экспрессии генов-мишеней, так и к воздействию на основные метаболические пути организма птицы. Существует четкая корреляция между уровнем экспрессии гена гормона роста и живой массой птицы [4].

Имеющиеся в настоящее время данные генотипирования птицы по гену гормона роста и оценки ее продуктивности достаточно разноречивы. Учитывая ограниченное количество информации по связи соответствующего генотипа петухов с продуктивными качествами кур, представляет интерес получение таких данных для последующего использования в селекционном процессе особей с наиболее желательными генотипами.

Целью наших исследований являлось изучение генетического разнообразия гена гормона роста (GH) у петухов-производителей отечественной селекции линии КЗ (куры несут яйца с коричневой окраской скорлупы) яичного направления продуктивности.

Материалы и методы. Исследования проводились на базе отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» УО «Гродненский государственный аграрный университет». Предметом исследований выступали отобранные образцы крови 120-дневных петухов-производителей в количестве 191 голова, содержащиеся в отделении «Заславль» ОАО «1-я Минская птицефабрика». 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 спектрофотометра Implen P330.

Амплификацию 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 минуты при 94 °С; 35 циклов: денатурация – 1 минута при 94 °С, отжиг – 45 секунд при 54 °С, синтез – 30 секунд при 72 °С; достройка – 10 минут при 72 °С.

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 минут, используя напряжение 110 В. Дальнейший анализ аллельных вариантов гена проводили с помощью эндонуклеазной рестриктазы MspI. Продукт амплификации расщепляли рестриктазой, смесь инкубировали при температуре 37 °С, в течении 12-16 часов, после чего разделение продуктов рестрикции проводили в 3% агарозном геле при напряжении 130 В.

Визуализацию полученных результатов проводили с использованием геледокументирующей 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: AA – 539/237 п.н., BB – 392/237 и 147 п.н., CC – 267/237/147 и 125 п.н., AB – 539/392/237 и 147 п.н., AC – 267/237/147 и 125 п.н., BC – 267/237/147 и 125 п.н.

Определение частоты встречаемости генотипов (%) по гену гормона роста (GH) проводили по формуле:

$$P = \frac{n}{N} \times 100 \quad (1),$$

где

P – частота встречаемости генотипов,

n – количество птицы, имеющих определенный генотип,

N – общее число птицы

Полученные данные использовали для расчета частоты встречаемости аллелей по гену гормона роста (GH) по следующим формулам:

$$pA = \frac{2nAA + nAB}{2N} \quad (2),$$

где

p_A – частота встречаемости аллеля А,

n – количество птицы, имеющих определенный генотип,

N – общее число птицы.

$$q_B = \frac{2n_{BB} + n_{AB} + n_{BC}}{2N} \quad (3),$$

где

q_B – частота встречаемости аллеля В,

n – количество птицы, имеющих определенный генотип,

N – общее число птицы.

$$d_C = \frac{2n_{CC} + n_{BC}}{2N} \quad (4),$$

где

d_C – частота встречаемости аллеля С,

n – количество птицы, имеющих определенный генотип,

N – общее число птицы.

Статистическую ошибку для обеих частот определяли по формуле (Меркурьева Е.К., 1977):

$$m_p = m_q = m_d = \sqrt{\frac{p \times q \times d}{2n}} \quad (5),$$

где

p – частота аллеля А,

q – частота аллеля В,

d – частота аллеля С,

n – общее число аллелей.

Полученные в результате расчетов данные сведены в таблицу и изображены в виде круговой диаграммы.

Результаты исследований и их осуждение. В результате ДНК-генотипирования исследуемого поголовья петухов (191 головы производителей отечественной линии КЗ), на основании анализа полиморфизма гена гормона роста (GH) установлено, что 96 голов или 50,26% несут гомозиготный генотип GH^{AA} , 77 голов или 40,31% имели гетерозиготный генотип GH^{AB} , у 15 голов или 7,86% выявлен гомозиготный генотип GH^{CC} , 2 головы или 1,05% имели гетерозиготный генотип GH^{BC} и 1 голова или 0,52% являлась носителем гомозиготного генотипа GH^{BB} (рисунок 1).

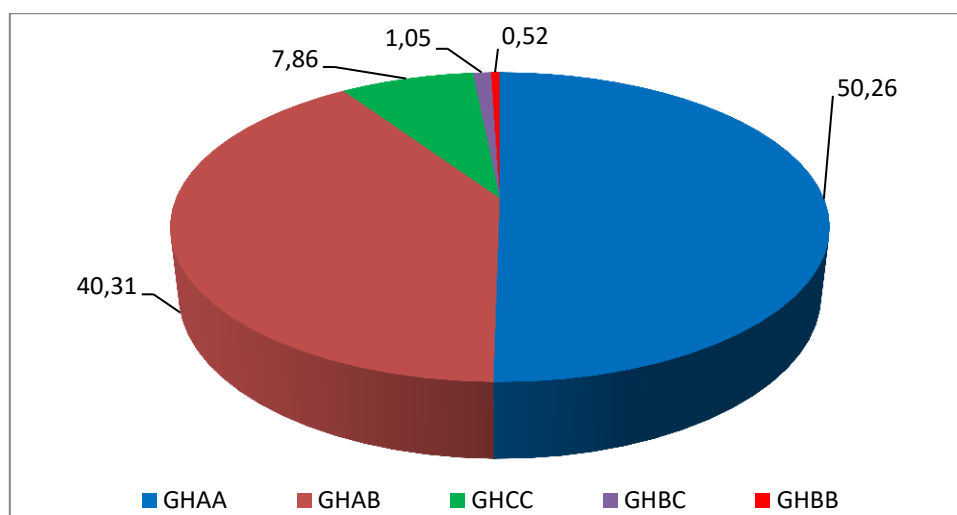


Рисунок 1 – Полиморфизм гена гормона роста у петухов-производителей отечественной линии КЗ, %

Частота встречаемости аллелей А, В и С составила $0,704 \pm 0,01$, $0,212 \pm 0,01$ и $0,084 \pm 0,01$, соответственно. По гену GH выражено преимущество аллеля А над аллелями В и С. Его частота среди исследованной птицы составила $0,704 \pm 0,01$ (таблица 1).

Таблица 1 – Полиморфизм гена GH у петухов-производителей

Генотип	n	Частота встречаемости генотипов, %	Частота аллелей		
			А	В	С
GH ^{AA}	96	50,26	$0,704 \pm 0,01$	$0,212 \pm 0,01$	$0,084 \pm 0,01$
GH ^{AB}	77	40,31			
GH ^{CC}	15	7,86			
GH ^{BC}	2	1,05			
GH ^{BB}	1	0,52			

В процессе исследований также установлено наличие мутационных изменений – аллель С, в гене гормона роста линии КЗ.

Заключение. На основании полученных результатов установлены различия по популяционно-генетической характеристике петухов-производителей отечественной линии КЗ по гену гормона роста, что позволяет определить и отобрать подходящий генетический материал для использования в процессе совершенствования материнской родительской формы отечественного цветного кросса яичных кур. Предоставляется возможность проводить селекционную работу со стадом кур на более высоком уровне для планирования его структуры и повышения продуктивности птицы, а также значительно повысит точность селекционной работы в яичном птицеводстве.

Список литературы

1. Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике // Генетика. 2002. Т. 38. С. 1173-1195.

2. Кулибаба Р.А. Полиморфизм генов гормона роста, рецептора гормона роста, пролактина и рецептора пролактина в связи с яичной продуктивностью у кур породы полтавская глинистая // Сельскохозяйственная биология. 2015. Т. 50, № 2. С. 198-207.

3. Porter T.E., Ellestad L.E., Fay A. Identification of the chicken growth hormone-releasing hormone receptor (GHRH-R) mRNA and gene: regulation of anterior pituitary GHRH-R mRNA levels by homologous and heterologous hormones // Endocrinology. 2006. V. 147(5). P. 2535-2543.

4. Enayati B., Rahimi-Mianji G. Genomic growth hormone, growth hormone receptor and transforming growth factor β -3 gene polymorphism in breeder hens of Mazandaran native fowls // African Journal of Biotechnology. 2009. Vol. 8 (14). P. 3154-3159.

УДК 636.22/.28.082.453.51

СОВРЕМЕННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ СЕМЕНИ У БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Костомахин Николай Михайлович

доктор биологических наук, профессор

ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

MODERN TECHNOLOGY OF SEMEN COLLECTING FROM SIREs

Kostomakhin N.M.

Doctor of Biological Sciences, Professor

FSBEI HE RSAU – MTAA

Аннотация. В работе была поставлена цель - изучить эффективность технологии взятия спермопродукции у быков-производителей по методике, применяемой в Российской Федерации, в сравнении с новой, используемой в ряде стран Западной Европы. Опыт проведен на племенных быках голштинской породы в АО «Московское по племенной работе». Были сформированы две группы быков-производителей (контрольная и опытная) для оценки влияния новой технологии взятия спермопродукции ($n=5$). Установлено, что племенные быки опытной группы по количеству эякулятов превосходили быков контрольной группы на 5,6 эякулятов на одного быка ($p<0,05$), по объему эякулята—на 0,75 мл. Поступившей спермопродукции было больше в опытной группе на 3126,6 дозы, или на 36,2% ($p<0,05$), чем в контрольной. В результате использования новой технологии получения спермопродукции у племенных быков дополнительный экономический эффект за период опыта в расчете на быка составил 90060,1 руб.

Annotation. The purpose of the work was to study the effectiveness of the technology for collecting semen from sires by using the method, which used in the Rus-