

Установлено, що комбінація комбігуматних форм превосходить по ефективності действия комбінації як солевих, так і хелатних форм мікроелементів і одночасно знижує дози додатково вводимих мікроелементів в 4 - 5 раз по сравнению с солевой і в 2 - 2,5 раза по сравнению с хелатной формами.

Ключевые слова: кормление ремонтных свинок; Железо; Медь; Марганец; Цинк; солевые и хелатные формы; гуминовые кормовые добавки.

INFLUENCE OF APPLICATION COMBINATION OF FOUR MICROELEMENTS IN VARIOUS FORMS IN FEEDING OF REPLACEMENT SOWS ON THEIR GROWTH

Kotlyar A. S., Institute of Animal Science NAAS, Ukraine

The influence of use of different form (salt, chelating and combyhumate) combination of four micro elements (Iron, Copper, Manganese and Zinc) in feeding of young pigs from 4,5 till 7,5 month age (with the post action till the 8,5 month age) on their growth parameter had been evaluated. It had been established that the combination of micro element combyhumate form was more effective comparing with the combination of both salt and micro element chelating form and at the same time decreased the additional micro element doses in the 4-5 times comparing with salt and in 2-2.5 times comparing with chelating form of micro elements.

Key words: gilt feeding, Iron, Copper, Manganese, Zinc, salt and chelating forms, Humic food additive.

УДК 636.52/. 58:575

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПРОДУКТИВНИХ ЯКОСТЕЙ ДВОХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МІКРОЛІНІЙ КУРЕЙ ПОРОДИ БІРКІВСЬКА БАРВИСТА

Кулібаба Р. О., к. с.-г. н.
Інститут тваринництва НААН

З використанням штучного осіменіння отримано дві мікролінії яєчних курей з гаплотипами IC та DT за локусом пролактину. Проведено порівняльний аналіз показників яєчної продуктивності кожної мікролінії курей в умовах експериментальної ферми. З'ясовано, що яєчна продуктивність на початкову несучку у групі курей з гаплотипом IC (129,25 шт. яєць) була на ~ 17 % вищою ніж у групі курей з гаплотипом DT (109,59 шт. яєць). Яєчна продуктивність на середню несучку у групі курей з гаплотипом IC (132,63 шт. яєць) була на ~ 16 % вищою ніж у групі курей з гаплотипом DT (114,27 шт. яєць). Середня інтенсивність несучості за продуктивний період для групи курей з гаплотипом IC була на ~ 16 % вищою ніж у другій групі та становила 62,56 та 53,9 % відповідно.

Ключові слова: пролактин, гаплотип, полімеразна ланцюгова реакція, рестрикція, поліморфізм, мікролінія, популяція.

Метою сучасної селекції у птахівництві є створення високопродуктивних ліній та кросів птиці. Одним із найбільш ефективних інструментів для рішення подібних завдань є селекція за допомогою маркерів (маркер-асоційована селекція, MAS) [6]. Використання молекулярно-генетичних маркерів (ДНК-маркерів), що лежить в основі цього типу селекції, дозволяє оцінити продуктивний потенціал птиці безпосередньо на рівні спадкового матеріалу (ДНК), що дає змогу значно



прискорити селекційну роботу. Первинна оцінка генетичної структури дослідної популяції дає змогу встановити перспективність маркера для подальшої роботи. Загальна схема використання ДНК-маркерів у селекції птиці складається з декілька етапів. По-перше, маркер (у даному контексті мова йде про цільовий ген) повинен бути поліморфним [8]. Власне наявність різних алельних варіантів дає передумови для вибору переважного алелю. По-друге, різні алелі цільового гену мають бути пов'язані з проявом господарчо-корисних ознак. По-третє, кількість особин у популяції має бути достатньою для забезпечення серії спрямованих схрещувань. Таким чином, генетико-популяційний аналіз може надавати інформацію яка дозволяє оцінити перспективність роботи з обраним маркером.

Далі необхідно проаналізувати зв'язок різних алельних варіантів поліморфних генів із господарчо-корисними ознаками. Даний аспект дуже важливий внаслідок породної специфічності молекулярно-генетичних маркерів.

У решті решт на фінальному етапі постає питання щодо створення експериментальних мікроліній курей за сукупністю дослідних локусів та перевірки їх продуктивних якостей в умовах практичного утримання.

Минулих років (2011 – 2014) автором було проаналізовано генетичну структуру популяції курей породи бірківська барвіста за сукупністю локусів та вивчено зв'язок різних алельних варіантів із показниками продуктивності (яєчна продуктивність) [9]. З'ясовано, що мутації в локусі пролактину відносяться до найбільш перспективних у контексті яєчної продуктивності [1]. Більш того, виявлено, що для курей яєчного напряму продуктивності, порівняно з комбінованим типом, характерна специфічна структура щодо алельного розподілу за локусом пролактину. Для популяції яєчних курей у випадку з інсерцією у промоторній ділянці гену є характерним переважання кількості особин із генотипами I/I та C/C – з одонуклеотидним поліморфізмом у положенні -2402. Для м'ясо-яєчних курей картина прямо протилежна [9].

Зв'язок пролактину з яєчною продуктивністю курей досить прозаїчний. Підвищення концентрації плазматичного пролактину протягом продуктивного циклу призводить до поступового зниження, а потім і повного припинення несучості [12, 13]. Також пролактин є індуктором прояву насиджування [7, 11]. Мутації у регуляторних ділянках гену потенційно можуть призвести до змін у характері його експресії, що, у свою чергу, знаходить відображення у фенотиповому прояві [3, 4]. Метою молекулярно-генетичних досліджень у птахівництві, у даному контексті, є аналіз алельного спектру пролактину у популяціях курей, зв'язку його алельних варіантів із продуктивними ознаками, підбір пар для схрещування та отримання експериментальних мікроліній. Саме отримання мікроліній курей дозволить у подальшому вивчити особливості їх продуктивних якостей при утриманні в умовах виробництва. Більш того, проведення генетичного аналізу на рівні ДНК дозволяє створити справжню чисту лінію, так як сукупність відібраних особин буде характеризуватися конкретними генотипами та їх комплексами за обраними локусами без можливої помилки, яка часто зустрічається при використанні методів класичної селекції (оцінки особин за фенотипом).

Виходячи з зазначеного, метою досліджень було створення мікроліній яєчних курей породи бірківська барвіста, що відрізняються за алельним складом у локусі пролактину та порівняння їх продуктивних якостей в умовах виробництва.

Матеріали та методи досліджень. Поліморфізм гену пролактину вивчали за наявністю інсерції розміром 24 п.н. у промоторній ділянці гену (24 indel) за транзицією цитозину у тимін у положенні -2402 (C-2402T).



Для проведення ампліфікації використовували наступні олігонуклеотиди:
 24 indel – 5'-tttaattgggtggggaagagaca-3', 5'-atgccactgatcctcgaaaactc-3' [4, 10];
 C-2402T – 5'-agaggcagcccaggcatttac-3', 5'-cctgggtctggttgaaatt-3' [5].

ПЛР проводили з використанням реагентів DreamTaq PCR Master Mix (Thermo Scientific) за допомогою програмуемого термоциклеру «Терцик» («ДНК-технологія», Росія) за відповідними програмами: 1 цикл – денатурація 94°C 5 хв.; 35 циклів – денатурація 94°C 45 с, віджиг (54°C PRL (24 indel), 62°C PRL (C-2402T), елонгація 72°C 60 с; 1 цикл – фінальна елонгація 72°C 10 хв. Об'єм реакційної суміші становив 20 μ L, концентрація праймерів – 0,2 μ M відповідно.

Обробку ампліфікованих фрагментів ендонуклеазою рестрикції проводили згідно з інструкцією (AluI, FastDigest, Thermo Scientific). Продукти рестрикції розділяли в 1,5 % агарозному гелі за напруги 150 V упродовж 40 хв. Продукти ампліфікації, у випадку інсерції, розділяли у 3 % агарозному гелі. Візуалізацію проводили з використанням етидіуму броміду в ультрафіолетовому спектрі. Розмір фрагментів визначали з використанням маркерів молекулярних мас M-50 та M-100. Генотипування особин за кожним із маркерів проводили за допомогою зіставлення довжини ампліфікованих/рестрикційних фрагментів на електрофореграмах.

PRL (24 indel) – алель I містить інсерцію розміром 24 п.н., того часу як алель D не містить. Генотип I/I представлено на електрофореграмі фрагментом розміром 154 п.н., D/D ~ 130 п.н., I/D ~ 130 та 154 п.н.

PRL (C-2402T) – алель C містить у своєму складі три сайти рестрикції для AluI (два мономорфних та один поліморфний), алель T – два. Генотип C/C представлено на електрофореграмі фрагментами розміром 160, 144, 81 та 54 п.н.; T/T ~ 304, 81 та 54 п.н.; C/T ~ 304, 160, 144, 81 та 54 п.н. Кодування алелів визначається наявністю цитозину або тиміну у сайті рестрикції. Наявність мономорфних сайтів рестрикції у складі амплікону дозволяє виключити технічну можливість недостатньої активності ферменту, так як наявність «нерозрізаного» амплікону у пробі не призводить до труднощів при генотипуванні особин.

Робота проведена у лабораторії профілактики захворювань птиці та молекулярної діагностики ДДСП НААН. Дослідну птицю утримували у віварії лабораторії та на експериментальній фермі.

Результати досліджень оброблені з використанням статистичних методів. Вивчено фактичний і теоретичний розподіл генотипів, частоти генотипів і алелів, критерій генетичної рівноваги χ^2 в популяції, ступінь її гетерозиготності, показники яєчної продуктивності птиці за загальноприйнятими методами [2].

Результати досліджень. В умовах віварію лабораторії провели генотипування особин курей породи бірківська барвіста за локусом пролактину. За результатами досліджень показано, що за двома типами поліморфізму (Indel та SNP) локус пролактину у дослідній популяції є поліморфним – у наявності особини всіх трьох можливих (за кожним типом) генотипів (рис.).

Для Indel у дослідній популяції курей превалюють особини з генотипом I/I, особин із генотипом D/D всього 5. Частота алелю I становила 0,82; D – 0,18 відповідно. Рівень фактичної гетерозиготності – 26 %.

У випадку з транзицією у положенні -2402 кількість особин кожного генотипу, а також частоти генотипів та алелів ідентичні показникам Indel. Так, наприклад, кількість особин із генотипом C/C становила 69 голів, T/T – 5. Слід зазначити той факт, що у популяції яєчних курей породи бірківська барвіста переважають особини з комплексними генотипами (гаплотипами) I/C та D/T. Особини з гаплотипами I/T та D/C зустрічаються досить рідко. Цей цікавий феномен можна

пояснити фактом зв'язку показників підвищеної яєчної продуктивності з алелями І та С. Так як дана порода курей мала вплив штучного відбору у рамках селекційної роботи з використанням оцінки особин за фенотипом (за параметрами яєчної продуктивності) до племінної групи потрапляли більш продуктивні особини гомозиготні за алелями І та С або гетерозиготи.

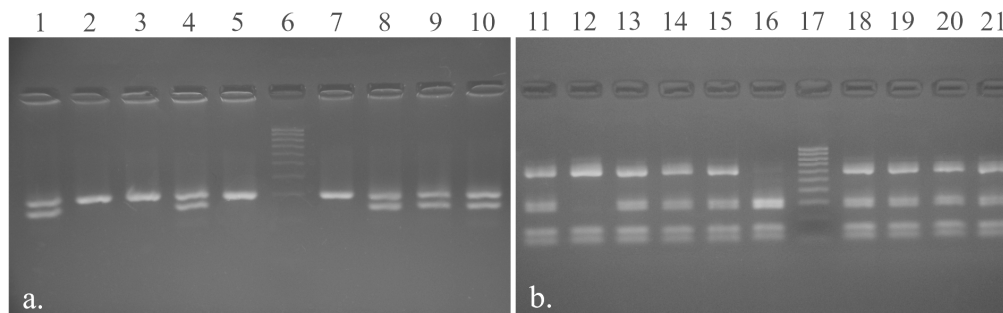


Рис. Електрофореграми продуктів ампліфікації (а), рестрикції (б) фрагменту гену пролактину. а. – 24 Indel; б. – С-2402Т; 6, 17 – маркер молекулярних мас М-50; 1, 4, 8-10 – генотип I/D; 2, 3, 5, 7 – I/I; 11, 13-15, 18-21 – C/T; 12 – T/T; 16 – C/C.

Згідно з попередньо проведеними дослідженнями, гетерозиготні за обома маркерами особини також демонструють підвищену яєчну продуктивність порівняно з особинами генотипів D/D та T/T, що пов'язано з кодомінантним типом успадкування. При використанні фенотипової оцінки птиці розрізнити гомозиготи від гетерозигот практично неможливо, що й призводить до збереження у генераціях низькопродуктивних алелів (D та T). Слід відзначити, що збереження низькопродуктивних алелів у популяціях тварин за рахунок вищезазначеного механізму можливо успішно подолати у селекційній роботі лише з використанням сучасних молекулярно-генетичних методів досліджень, які дозволяють проводити оцінку особин за структурою спадкового матеріалу безпосередньо.

Дослідна популяція курей за вивченими маркерами знаходиться у стані генетичної рівноваги, при цьому особливості її генетичної структури дозволяють відібрати особин із різними генотипами для проведення схрещувань. Відсутність відхилень від стану генетичної рівноваги з превалюванням у популяції гомозиготних за алелями І та С особин, підтверджується даними за 2011 рік, й свідчить про сталу структуру дослідної лінії курей, що, на нашу думку, пов'язано з направленням продуктивності птиці. У цілому для яєчних курей різних порід характерно переважання концентрації алелів І та С, яке наближається до мономорфності локусу за даними мутаціями у комерційних лініях та породах [3].

У подальшому, з метою отримання нащадків із бажаними гаплотипами, проаналізували півнів, відібрали потрібних особин (з різними генотипами). Взагалі прогенотипували 100 самок та 10 самців.

За результатами досліджень були відібрані особини обох статей з гаплотипами IC та DT. Гаплотип IC відповідає наявності інсерції розміром 24 п.н. в промоторній ділянці та наявності залишку цитозину в положенні -2402 гену пролактину. У свою чергу гаплотип DT відповідає відсутності інсерції в промоторній ділянці та наявності тиміну в положенні -2402 гену пролактину. Далі проводили серію схрещувань із використанням штучного осіменіння для отримання нащадків із бажаними генотипами. Отримане племінне яйце маркували та інкубували. Таким чином були отримані нащадки з гаплотипами IC та DT. Для контролю ефективності штучного осіменіння проводили генотипування нащадків у кіль-



кості 10 голів із кожної групи, які були відібрані випадково. Результати досліду вказують на повну відповідність до очікуваних генотипів у кожній групі.

Сформовані групи курей (групи ІС та ДТ відповідно) утримували в умовах експериментальної ферми «Збереження державного генофонду птиці» ДДСП НААН. Продуктивний період продовжувався з грудня 2014 року до червня 2015 р. Тип утримання птиці – групове кліткове. Упродовж всього періоду утримання оцінювали показники яєчної продуктивності кожної з груп. Результати досліджень наведено у таблиці.

Таблиця

Загальні показники яєчної продуктивності дослідних груп курей породи бірківська барвіста з різними гаплотипами за локусом пролактину

Гаплотип	Місяць							За весь період
	Грудень	Січень	Лютий	Березень	Квітень	Травень	Червень	
Яєць на початкову несучку, шт.								
DT	3,73	20,62	18,19	20,24	18,29	17,95	15,62	109,59
IC	4,53	23,46	21,19	22,17	21,72	21,36	18,28	129,25
Яєць на середню несучку, шт.								
DT	3,73	20,62	18,19	20,24	18,29	17,95	15,62	114,27
IC	4,55	23,46	21,19	22,50	21,72	21,36	18,28	132,63
Інтенсивність несучості, %								
DT	12,02	66,51	64,97	65,28	60,95	57,91	52,06	53,90
IC	14,68	75,69	75,66	72,58	72,39	68,90	60,94	62,56

За результатами досліджень показано, що яєчна продуктивність на початкову несучку у групі курей з гаплотипом ІС (129,25 шт. яєць) була на ~ 18 % вищою, ніж у групі курей з гаплотипом ДТ (109,59 шт. яєць) (різниця вірогідна, $p < 0,001$). Яєчна продуктивність на середню несучку у групі курей з гаплотипом ІС (132,63 шт. яєць) була на ~ 16 % вищою, ніж у групі курей з гаплотипом ДТ (114,27 шт. яєць) (різниця вірогідна, $p < 0,001$). Середня інтенсивність несучості за продуктивний період для групи курей з гаплотипом ІС на ~ 16 % вища, ніж у другій групі, та становила 62,56 та 53,90 % відповідно (різниця вірогідна, $p < 0,001$).

Збереженість птиці в групі ДТ становила 95,50 %; в групі ІС – 96,40 %; що в цілому несуттєво відрізняється від значень збереженості у загальному стаді курей цієї породи (94,80 %).

Таким чином, результати досліджень підтверджують (на рівні утримання птиці в умовах виробництва) дані, які були отримані у попередні роки, щодо позитивного зв'язку алелів І та С за локусом пролактину з показниками яєчної продуктивності курей породи бірківська барвіста.

Слід зазначити, що виявлення у популяції курей небажаних алелів (D та T) можливе лише з використанням аналізу ДНК. Методів класичної селекції, які обмежені лише оцінкою особин за фенотипом, у подібних випадках справді недостатньо, що підкреслює необхідність комплексного підходу до селективної роботи з птицею.

Висновки:

1. Створено експериментальні мікролінії яєчних курей породи бірківська барвіста з гаплотипами ІС та ДТ за локусом пролактину.

2. Проведено порівняльний аналіз продуктивних якостей (яєчна продуктивність) дослідних мікроліній курей в умовах експериментальної ферми.



3. З'ясовано, що ячна продуктивність мікролінії курей з гаплотипом ІС вища ніж з гаплотипом DT на 16 – 17 % в перерахунку на середню та початкову несучку, та на 16 % за показником інтенсивності несучості протягом продуктивного періоду.

4. За результатами досліджень показано можливість виключення з дослідних популяцій курей особин із небажаними генотипами за локусом пролактину, що є необхідною умовою для створення однорідних чистих ліній птиці.

Бібліографічний список

1. Кулибаба Р. А. Связь функционального полиморфизма целевых генов (PRL, GH, GHR) с продуктивными признаками яичных кур украинской селекции / Р. А. Кулибаба / Генетика и разведение животных. – 2015. – №3. – С. 75 – 80.

2. Меркурьева Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве // М.: Колос, 1977. 240 с.

3. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens / R.-S. Jiang, G.-Y. Xu, X.-Q. Zhang [et al.] // Poultry Science. – 2005. – Vol. 84. – P. 839 – 845.

4. Association of polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production / J.-X. Cui, H.-L. Du, Y. Liang [et al.] // Poultry Science. – 2006. – Vol. 85. P. 26– 31.

5. Association of prolactin and prolactin receptor gene polymorphisms with economic traits in breeder hens of indigenous chickens of Mazandaran province / H. Rashidi, G. Rahimi-Mianji, A. Farhadi [et al.] // Iranian journal of biotechnology. – 2012. – Vol. 10 (2). – P. 129 – 135.

6. Fulton J. E. Molecular genetics in a modern poultry breeding organization / J. E. Fulton // World's Poultry Sci. J. – 2008. – Vol. 64. – P. 171 – 176.

7. Hormonal induction of incubation behavior in ovariectomized female turkeys (*Meleagris gallopavo*) / M. E. El Halawani, J. L. Silsby, E. J. Behnke [et al.] // Biology of reproduction. – 1986. – Vol. 35. – P. 59 – 67.

8. Khlestkina E. K. Molecular markers in genetic studies and breeding / E. K. Khlestkina // Russ J Genetics. – 2014. – Vol. 4 (3). – P. 236 – 244.

9. Kulibaba R. A. Prolactin and growth hormone gene polymorphisms in chicken lines of Ukrainian selection / R. A. Kulibaba, A. P. Podstreshnyi // Cytology and genetic. – 2012. – Vol. 46 (6). – P. 390 – 395.

10. Polymorphisms of 5'flanking region of chicken prolactin gene / R.-S. Jiang, G.-Y. Xu, X.-Q. Zhang [et al.] // Domestic animal endocrinology. – 2006. – Vol. 30. – P. 1 – 16.

11. Prolactin (PRL) and prolactin receptor (PRLR) genes and their role in poultry production traits / A. Wilkanowska, A. Mazurowski, S. Mroczkowski [et al.] // Folia Biol (Krakow). – 2014. – Vol. 62 (1). – P. 1 – 8.

12. Prolactin and growth hormone in birds: protein structure, gene structure and genetic variation / N. Kansaku, G. Hiyama, T. Sasanami [et al.] // The journal of poultry science. – 2008. – Vol. 45. – P. 1 – 6.

13. Reddy I. J. Chemical control of prolactin secretion and its effect on pause days, egg production and steroid hormone concentration in Girirani birds / I. J. Reddy, C. G. David, S. S. Raju // Int. J. Poult. Sci. – 2006. – Vol. 5 (7). – P. 685 – 692.



СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОДУКТИВНЫХ КАЧЕСТВ ДВУХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МИКРОЛИНИЙ КУР ПОРОДЫ БОРКОВСКАЯ БАРВИСТАЯ

Кулибаба Р. А., Институт животноводства НААН

С использованием искусственного осеменения получены две микролинии яичных кур с гаплотипами IC и DT по локусу пролактина. Проведен сравнительный анализ показателей яичной продуктивности каждой микролинии кур в условиях экспериментальной фермы. Выяснено, что яичная продуктивность на начальную несушку в группе кур с гаплотипом IC (129,25 шт. яиц) была на ~ 17 % достоверно больше чем в группе кур с гаплотипом DT (109,59 шт. яиц). Яичная продуктивность на среднюю несушку в группе кур с гаплотипом IC (132,63 шт. яиц) была на ~ 16 % больше чем в группе кур с гаплотипом DT (114,27 шт. яиц). Средняя интенсивность яйценоскости за продуктивный период для группы кур с гаплотипом IC была на ~ 16 % больше чем во-второй группе и составила 62,56 и 53,9 % соответственно.

Ключевые слова: пролактин, гаплотип, полимеразная цепная реакция, рестрикция, полиморфизм, микролиния, популяция.

THE RELATIVE ANALYSIS OF PRODUCTIVE QUALITIES OF THE TWO EXPERIMENTAL MICROLINES OF BIRKIVSKA BARVYSTA CHICKEN BREED

Kulibaba R. O., Institute of Animal Science NAAS

With the use of artificial insemination received two microlines egg-laying hens with haplotypes IC and DT by prolactin locus. A relative analysis for the egg production of each microlines in experimental farm was carried out. It was found that egg production by the initial hen for group with IC haplotype (129,25 pcs) was on ~ 17 % significantly higher than for the group with haplotype DT (109,59 pcs). Egg production by the average hen for group with IC haplotype (132,63 pcs) was on ~ 16 % higher than for the group with haplotype DT (114,27 pcs). The average intensity of chicken egg-laying for productive period for group with IC haplotype was on ~ 16 % higher than for the second group, and amounted to 62,56 and 53,9 %, respectively.

Key words: prolactin, haplotype, polymerase chain reaction, restriction, polymorphism, microline, population.