



УДК 636.52/.58:575.113.2

## РОЗПОДІЛ GHR-АЛЕЛІВ У ПОПУЛЯЦІЯХ КУРЕЙ РІЗНИХ ПОРІД

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

*Вивчено поліморфізм локусу рецептору гормону росту в популяціях курей вітчизняної селекції різних напрямів продуктивності. Показано, що ген рецептору гормону росту за NspI-поліморфізмом у п'ятому інтроні є поліморфним у популяції курей породи Род-айленд червоний. Частота алелю А (NspI-) склала 0,20; алелю В (NspI+) – 0,80. З'ясовано, що за HindIII-поліморфізмом у другому інтроні, ген рецептору гормону росту є мономорфним у популяціях курей порід Род-айленд червоний (лінія 38), плімутрок білий (лінія Г-2) та бірківська барвіста (лінія А). В дослідних популяціях в наявності тільки особини з генотипом В0 (HindIII+/0). У популяції курей породи полтавська глиняста (лінія 14) за HindIII-поліморфізмом у другому інтроні, ген рецептору гормону росту є поліморфним. Частота алелю А (HindIII-) склала 0,29; алелю В (HindIII+) – 0,71. З'ясовано, що в популяції курей породи полтавська глиняста за локусом GHR в наявності особини з гаплотипами А0В0 (NspI-/HindIII+), В0А0 (NspI+/HindIII-) та В0В0 (NspI+/HindIII+). Особин з гаплотипом А0А0 (NspI-/HindIII-) не виявлено.*

Ключові слова: **поліморфізм, кури, рецептор гормону росту, популяція, гемізіготність, рестрикція.**

Широкомасштабне застосування сучасних методів селекції у тваринництві, що засновані на використанні молекулярно-генетичних маркерів (маркер-асоційована селекція, MAS) полягає, перш за все, у вивченні поліморфізму різних генів-кандидатів, алельні варіанти яких можуть бути пов'язані з проявом господарсько-корисних ознак [1]. Виявлення подібних алельних варіантів дозволяє у подальшому проводити направленні схрещування особин з метою отримання нащадків з бажаними генотипами. Ступінь прояву ефекту алелю на господарсько-корисну ознаку визначається спектром функціональної активності продукту цього гену. З даної точки зору перспективними генами-кандидатами є гени, що кодують гормони та їх рецептори [2, 3, 4]. Функції гормонів пов'язані з регуляцією безлічі основних фізіологічних функцій організму, в свою чергу, фізіологічна дія гормону визначається його рецептором. Виходячи з цього, будь-які зміни в структурі молекули або характері експресії гену можуть призводити до виражених ефектів, що мають визначальне значення для потреб сучасної селекції. У птахівництві одним із найбільш цікавих об'єктів у цьому контексті відноситься ген рецептору гормону росту курей [5, 6].

Функції рецептору гормону росту полягають у забезпеченні функціональної активності безпосередньо гормону росту, оскільки фізіологічна активність гормонів визначається їх рецепторами. Він належить до групи трансмембранних білків, що мають тирозинкіназну активність. Має структурну схожість з рецептором пролактину. У зв'язку з великим фізіологічним значенням рецептору гормону росту будь-які зміни у його структурі (амінокислотній послідовності) можуть призводити до чисельних виражених ефектів та порушень нормальних біологічних функцій організму [7].

Ген рецептору гормону росту (GHR) – містить у своєму складі 9 екзонів та 8 інтронів, розташований у Z хромосомі. Велике значення, яке дослідники приді-



ляють *GHR* у цілому не є дивовижним, беручи до уваги весь спектр фізіологічних функцій, в забезпеченні яких приймає участь продукт цього гену. Це особливо актуально стосовно питань пошуку різних алельних варіантів *GHR*, які можуть мати зв'язок з відмінностями прояву господарчо-корисних ознак, у популяціях різних видів сільськогосподарських тварин [8]. Так, наприклад, ген рецептору гормону росту – один з найбільш популярних об'єктів у генетиці птиці для вивчення його алельного різноманіття з метою пошуку мутантних варіантів, що мають пріоритетне значення для селекційної роботи [9]. З'ясовано, що певні мутантні варіанти *GHR* пов'язані з феноменом «карликовості» курей, який має велике значення у птахівництві [10]. Пошук різних алельних варіантів *GHR* проводять з використанням сучасних молекулярно-генетичних методів досліджень, що дозволяють визначати мутантні варіанти безпосередньо на рівні спадкового матеріалу. Схожий підхід дозволяє проводити пошук мутацій практично у будь-якій частині гену – в екзонах, інтронах, регуляторних ділянках. Результати досліджень можна безпосередньо використовувати у програмах маркер-асоційованої селекції (MAS). В останні роки в зарубіжних країнах проводяться масштабні дослідження щодо вивчення поліморфізму *GHR* в популяціях курей різних порід і напрямків продуктивності [6, 8, 11]. В результаті проведених робіт виявлено різні алельні варіанти *GHR*, що пов'язані з показниками яєчної та м'ясної продуктивності птиці [9, 12]. В даній роботі ми акцентуємо увагу на вивченні поліморфізму гену рецептору гормону росту в популяціях курей різних порід української селекції. У попередні роки ми проводили роботу спрямовану на вивчення NspI-поліморфізму у 5 інтронах *GHR* у популяціях курей українських генофондних порід [13, 14].

Метою досліджень було вивчення HindIII- та NspI-поліморфізму *GHR* у популяції курей породи Род-айленд червоний (лінія 38), а також HindIII-поліморфізму *GHR* у популяціях курей порід плімутрок білий (лінія Г-2), бірківська барвіста (лінія А) та полтавська глиняста (лінія 14).

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проведені у лабораторії профілактики захворювань птиці та молекулярної діагностики Державної дослідної станції птахівництва НААН.

Для проведення дослідів була використана птиця вітчизняної селекції різних напрямків продуктивності: кури яєчні породи бірківська барвіста лінія А (n=100); кури м'ясо-яєчні породи плімутрок білий лінія Г-2 (n=100); кури яєчно-м'ясні порід Род-айленд червоний лінія 38 (n=100) та полтавська глиняста лінія 14 (n=45).

Від кожної лінії курей відібрали зразки крові на експериментальній птахофермі «Збереження державного генофонду птиці» Державної дослідної станції птахівництва Національної академії аграрних наук України.

Кров відбирали методом «крапля крові на папері» з гребеня з використанням скарифікатору. Виділення ДНК проводили з використанням комерційного набору реагентів «ДНК Сорб-В» (Російська Федерація).

Поліморфізм локусу рецептору гормону росту визначали за наявністю поліморфних сайтів у другому та п'ятому інтронах. Рестрикційний аналіз проводили з використанням HindIII (другий інтрон) та NspI (п'ятий інтрон).

Ампліфікацію другого інтрону гену проводили з використанням праймерів:

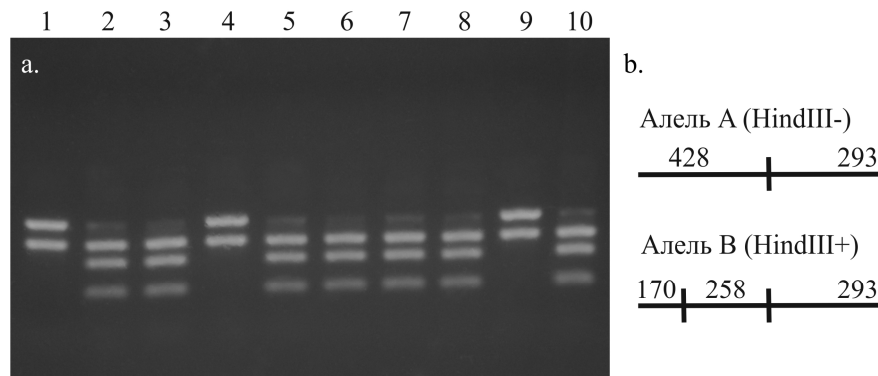
*forward* 5'-GGCTCTCCATGGGTATTAGGA-3';

*reverse* 5'-GCTGGTGAACCAATCTCGGT-3' [5].

Ампліфікацію п'ятого інтрону проводили з використанням праймерів:

*forward* 5'-ACGAAAAGTGTTCAGTGTGA-3';





**Рис. 2. Електрофореграма продуктів рестрикції другого інтрону гену рецептору гормону росту курей породи полтавська глиняста (а).**

**Схема патернів рестрикції та відповідні алелі (b):**

1, 4, 9 – генотип А0 (HindIII-/0); 2, 3, 5-8, 10 – В0 (HindIII+/0).

Як слідує з результатів досліджень, ген рецептору гормону росту за HindIII-поліморфізмом у другому інтроні є поліморфним тільки в популяції курей породи полтавська глиняста. В лінії 14 в наявності особини обох можливих генотипів – А0 (HindIII-/0) й В0 (HindIII+/0) (рис. 2). В інших дослідних популяціях курей *GHR* є мономорфним. В наявності тільки особини з генотипом В0 (HindIII+/0) (табл. 1). Як зазначено на рис. 2 кодування HindIII+ або HindIII- вказує на наявність/відсутність поліморфного сайту рестрикції (при цьому наявність мономорфного сайту в кожному з алелів не враховується). Використання даного типу кодування алелів вважається нами більш зручною в порівнянні з загальноприйнятою (алелі А й В), що дозволяє уникнути плутанини при аналізі результатів досліджень інших авторів, які іноді довільно маркують алелі, як, наприклад, в роботах Enayati B. Et al., 2009 та Seyyedbabayi M. Et al., 2014.

Таблиця 1

**Частоти GHR-алелів (HindIII-поліморфізм)  
у популяціях курей різних порід**

Порода курей	Алелі	
	А (HindIII-)	В (HindIII+)
Плімутрок білий	0	1
Бірківська барвіста	0	1
Полтавська глиняста	0,29	0,71
Род-айленд червоний	0	1

За частотами алелів популяції курей порід плімутрок білий, Род-айленд червоний та бірківська барвіста значно відрізняються від порід курей, що вивчались у роботах закордонних дослідників. Мономорфний характер даного локусу різко вирізняє популяції курей вітчизняної селекції від інших, в яких *GHR* за HindIII-поліморфізмом є поліморфним, однак, частоти алелів HindIII+ й HindIII- в яких (згідно результатам досліджень закордонних колег) надто варіюють. Так, наприклад, у популяціях іранських курей знайдено лише одну особину з генотипом HindIII-/0 із загального поголів'я в 156 особин [8]. В той же час у іншій роботі частота алелю А (HindIII-) була дещо більшою й досягала 0,15 [6]. У популяції курей породи білий леггорн частота алелю HindIII- склала 0,38 [5].



Враховуючи, що тільки в популяції курей породи полтавська глиняста за двома визначеними мутаціями *GHR* є поліморфним, проведемо аналіз частот гаплотипів *GHR* за кожної з мутацій. Загальна кількість можливих гаплотипів дорівнює чотирьом, а саме: A0A0 (NspI-/HindIII-); A0B0 (NspI-/HindIII+); B0A0 (NspI+/HindIII-); B0B0 (NspI+/HindIII+).

Таблиця 2

**Гаплотипи за локусом рецептору гормону росту в популяції курей породи полтавська глиняста**

№	Гаплотипи NspI/HindIII	Поголів'я	
		n	%
1	A0A0 (NspI-/HindIII-)	0	0
2	A0B0 (NspI-/HindIII+)	13	29
3	B0A0 (NspI+/HindIII-)	13	29
4	B0B0 (NspI+/HindIII+)	19	42

При цьому за результатами досліджень встановлено, що у дослідній популяції курей (полтавська глиняста) з найбільшою частотою зустрічаються особини з гаплотипом NspI+/HindIII+, в той же час особин з гаплотипом NspI-/HindIII- не виявлено взагалі (табл. 2). Особини з гаплотипами NspI-/HindIII+ й NspI+/HindIII- зустрічаються з однаковою частотою. Подібна картина розподілу гаплотипів *GHR* ймовірно вказує на тиск відбору проти особин з гаплотипом NspI-/HindIII-, однак перевірка цього припущення потребує проведення додаткових досліджень.

Розглянемо, тепер, один специфічний аспект питання про генотипування особин птиці за локусом рецептора гормону росту, який часто слугує джерелом невірних інтерпретацій результатів досліджень.

Поряд з класичними варіантами класифікації молекулярно-генетичних маркерів (поділ на класи тощо) пильної уваги заслуговує, здавалося б цілком вирішене, питання про стан спадкового апарату організму. Як відомо, в разі диплоїдного організму гени можуть перебувати в кількох станах – гомозиготному, гетерозиготному і гемізиготному. Якщо в першому і другому варіантах різних труднощів і питань не виникає, то у випадку з гемізиготністю можливі плутанина і невірна інтерпретація результатів досліджень. Під терміном гемізиготність визначається присутність тільки одного алелю і в однині у диплоїдного організму [16, 17]. Як правило, гемізиготні маркери пов'язані зі статевими хромосомами.

Гемізиготні маркери мають деякі переваги порівняно з «класичними». Так, наприклад, наявність тільки одного алелю безпосередньо призводить до прояву ознаки без урахування впливу іншого алелю того ж локусу (як у випадку з гетерозиготами). Тобто рецесивний алель буде проявлятися в фенотипі практично в будь-якому випадку, а не лише в гомозиготному стані (класичні маркери).

В даному контексті окремої уваги заслуговує факт наявних помилок генотипування за локусом *GHR*, які зустрічаються в науковій літературі. Найчастіше при аналізі поліморфізму *GHR* в популяціях самок курей, автори не враховують гемізиготний стан даного локусу. У птахів, на відміну від ссавців, гетерогаметною статтю виступають самки, а не самці. Генотип самки за статевими хромосомами – ZW, самця – ZZ. Оскільки ген рецептору гормону росту локалізований в Z хромосомі, то у самок він представлений в єдиному варіанті (алелі), а у самців – у двох. Виходячи з цього, гетерозиготний генотип можна визначити тільки при аналізі самців птиці. Це є характерною рисою гемізиготних локусів у птиці. Даний факт





нерідко ігнорується дослідниками, які аналізують гетерозиготність у курей при роботі з самками, описуючи їх генотип за *GHR* як гомозиготний і т.д. [9, 11, 12].

#### **Висновки:**

1. Показано, що ген рецептору гормону росту за NspI-поліморфізмом у п'ятому інтроні є поліморфним у популяції курей породи Род-айленд червоний. Частота алелю А (NspI-) склала 0,20; алелю В (NspI+) – 0,80.

2. З'ясовано, що за HindIII-поліморфізмом у другому інтроні, ген рецептору гормону росту є мономорфним у популяціях курей порід Род-айленд червоний (лінія 38), плімутрок білий (лінія Г-2) та бірківська барвиста (лінія А). В дослідних популяціях в наявності тільки особини з генотипом В0 (HindIII+/0).

3. У популяції курей породи полтавська глиняста (лінія 14) за HindIII-поліморфізмом у другому інтроні, ген рецептору гормону росту є поліморфним. Частота алелю А (HindIII-) склала 0,29; алелю В (HindIII+) – 0,71.

4. Виявлено, що в популяції курей породи полтавська глиняста за локусом *GHR* в наявності особини з гаплотипами А0В0 (NspI-/HindIII+), В0А0 (NspI+/HindIII-) та В0В0 (NspI+/HindIII+). Особин з гаплотипом А0А0 (NspI-/HindIII-) не виявлено.

#### **Бібліографічний список**

1. A study of association between genetic markers in candidate genes and reproductive traits in one generation of a commercial broiler breeder hen population / I.C. Dunn, Y.W. Miao, A. Morris [et al.] // *Heredity*. – 2004. – Vol. 92. – P. 128 – 134.
2. Single-nucleotide polymorphism analysis of GH, GHR, and IGF-1 genes in minipigs / Y. G. Tian, M. Yue, Y. Gu [et al.] // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. – 2014. – Vol. 47 (9). – P. 753 – 758.
3. Pierzchala M. Use of modern genetics achievements for improvement of pork quality – a review / M. Pierzchala, C.Sh. Pareek, J. Kuryl // *Polish journal of food and nutrition sciences*. – 2006. – Vol. 15 (56). – P. 369 – 377.
4. Comparative study on the genetic diversity of GHR gene in Tibetan cattle and Holstein cows / F. Deng, C. Xia, X. Jia // *Animal biotechnology*. – 2015. – Vol. 26 (3). – P. 217 – 221.
5. Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor gene in a white leghorn strain / X. P. Feng, U. Kuhnlein, S. E. Aggrey [et al.] // *Poultry science*. – 1997. – Vol. 76. – P. 1770 – 1775.
6. Growth hormone receptor gene polymorphism and its associations with some growth traits in West-Azarbaijan native chicken / M. Seyyedbabayi, H. Seyyedabadi, A. Gorbani // *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*. – 2014. – Vol. 3 (6). – P. 140 – 143.
7. Waters M. J. The growth hormone receptor / M. J. Waters // *Growth Hormone & IGF Research*. – 2016. – Vol. 28. – P. 6 – 10.
8. Enayati B. Genomic growth hormone, growth hormone receptor and transforming growth factor  $\beta$ -3 gene polymorphism in breeder hens of Mazandaran native fowls / B. Enayati, G. Rahimi-Mianji // *African Journal of Biotechnology*. – 2009. – Vol. 8 (14). – P. 3154 – 3159.
9. PCR-RFLP-Gene Study in Musculoskeletal Deformed Birds / P. V. Nandedkar, V. K. Saxena, M. Saxena [et al.] // *Indian Res. J. Ext. Edu. (Special issue on Veterinary Research & Extension)*. – 2014. – Vol. 14 (4). – P. 128 – 134.
10. Effects of the chicken sex-linked Dwarf gene on growth and muscle development / C. F. Chen, Y. H. Chen, M. Tixier-Boichard [et al.] // *Asian-Aust. J. Anim. Sci*. – 2009. – Vol. 22 (7). – P. 937 – 942.



11. Associations between GHR and IGF-1 gene polymorphisms, and reproductive traits in Wenchang chickens / Li H., Zhu W., Chen K. [et al] // Turk. J. Vet. Anim. Sci. – 2008. – Vol. 32 (4). – P. 281 – 285.
12. Effects of the polymorphisms of GHR gene and IGF-1 gene on egg quality in Wenchang chicken / Li H., Zhu W., Chen K. [et al] // Research Journal of Poultry Sciences. – 2010. – Vol. 3 (2). – P. 19 – 22.
13. 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. – 2015. – Том 50 (№2). – С. 198 – 207.
14. Кулибаба Р. А. Генетическая структура линий кур разного направления продуктивности по локусу рецептора гормона роста / Р. А. Кулибаба // Птахівництво: Міжвід. тем. наук. зб. – Х., 2012. – Вип. 69. – С. 26 – 32.
15. Меркурьева Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве // М.: Колос, 1977. – 240 с.
16. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции // М.: Высшая школа, 1989. – 591 с.
17. Snustad D. P., Simmons M. J. Principles of genetics // John Wiley & Sons, 2012. – 786 p.

#### РАСПРЕДЕЛЕНИЕ GHR-АЛЛЕЛЕЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ КУР РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД

Кулибаба Р. А., Институт животноводства НААН

Изучен полиморфизм локуса рецептора гормона роста в популяциях кур отечественной селекции разных направлений продуктивности. Показано, что ген рецептора гормона роста по *NspI*-полиморфизму в пятом интроне является полиморфным в популяции кур породы Род-айленд красный (линия 38). Частота аллеля А (*NspI*-) составила 0,20; аллеля В (*NspI*+) – 0,80. Выяснено, что по *HindIII*-полиморфизму во-втором интроне, ген рецептора гормона роста является мономорфным в популяциях кур пород Род-айленд красный (линия 38), плимутрок белый (линия Г-2) и борковская барвистая (линия А). В опытных популяциях кур в наличии только особи с генотипом В0 (*HindIII*+/0). В популяции кур породы полтавская глинистая (линия 14) по *HindIII*-полиморфизму во-втором интроне, ген рецептора гормона роста является полиморфным. Частота аллеля А (*HindIII*-) составила 0,29; аллеля В (*HindIII*+) – 0,71. Выяснено, что в популяции кур породы полтавская глинистая по локусу GHR в наличии особи с гаплотипами А0В0 (*NspI*-/*HindIII*+), В0А0 (*NspI*+/*HindIII*-) и В0В0 (*NspI*+/*HindIII*+). Особей с гаплотипом А0А0 (*NspI*-/*HindIII*-) не выявлено.

Ключевые слова: полиморфизм, куры, рецептор гормона роста, популяция, гемизиготность, рестрикция.

#### A DISTRIBUTION OF GHR-ALLELES IN CHICKEN POPULATIONS OF DIFFERENT BREEDS

Kulibaba R. O., Institute of Animal Science of NAAN

The polymorphism of growth receptor gene in chicken populations of Ukrainian selection of different direction of productivity was studied. It is shown that growth hormone receptor gene by *NspI*-polymorphism in fifth intron is polymorphic in the chicken population of Rhode Island Red breed (line 38). The frequency of allele А (*NspI*-) was 0.20; allele В (*NspI*+) – 0,80. It was found that growth hormone receptor gene (by *HindIII*-polymorphism in the second intron) was monomorphic in chicken



populations of Rhode Island Red (line 38), White Plymouth Rock (line G-2) and birkivska barvista (line A) breeds. There were only individuals with genotype B0 (HindIII + / 0) in experimental populations. The growth hormone receptor gene (by HindIII-polymorphism in the second intron) was polymorphic in the Poltava clay chicken breed. The frequency of allele A (HindIII-) was 0.29; allele B (HindIII +) – 0.71. It was found that in the population of Poltava clay chicken breed by GHR locus the individuals with haplotype A0B0 (NspI- / HindIII +), B0A0 (NspI + / HindIII-) and B0B0 (NspI + / HindIII +) were presented. Individuals with haplotype A0A0 (NspI- / HindIII-) were doesn't found.

*Key words: polymorphism, chicken, growth hormone receptor, population, hemizyosity, restriction.*

УДК 636.27.034.085.8:577.118

## **МОЛОЧНА ПРОДУКТИВНІСТЬ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ХЕЛАТІВ КУПРУМУ, ЦИНКУ І МАНГАНУ**

**Кулібаба С. В., м. н. с.**

Інститут тваринництва НААН

*У статті розглядаються питання щодо впливу різних доз хелатних та неорганічних солей Купруму (Cu), Цинку (Zn), Мангану (Mn) на молочну продуктивність корів української чорно-рябої молочної породи в перші чотири місяці лактації. Контрольна група корів отримувала премікс з сірчаноокислими солями Cu, Zn і Mn у дозі, що на 100 % покривав їх нестачу в кормах. Дослідні тварини I, II і III груп отримували премікси з хелатними комплексами Cu, Zn і Mn (у перерахунку на чистий елемент), які компенсували дефіцит мікроелементів в кормах раціону на 100, 50 і 25 %, відповідно. В результаті проведених досліджень показано, що використання хелатів Cu, Zn і Mn у якості мінеральної підгодівлі корів сприяє підвищенню молочної продуктивності тварин, порівняно з сірчаноокислими солями. Встановлено, що, порівняно з контролем, корови I та II дослідних груп мали вищий валовий надій молока 4 %-вої жирності на 124,1 кг (P < 0,05) та на 152,7 кг молока, відповідно. Визначено, що кількість отриманого молочного жиру за 120 днів досліду відрізнялась на користь тварин I та II груп на 5,63 % (P < 0,05) і 6,87 %, щодо контролю. Кількість молочного білка була вищою в I групі на 4,1 кг, в II – на 5,4 кг, порівняно з контролем. Встановлено, що корови третьої дослідної групи мали найнижчі показники молочної продуктивності, тому дану експериментальну дозу мікроелементів не ефективно використовувати в годівлі.*

**Ключові слова: корови, молочна продуктивність, надій, якість молока, хелати, мікроелементи.**

Ефективність виробництва галузі скотарства, рівень молочної продуктивності корів знаходяться в прямій залежності від збалансованості кормових раціонів, оскільки більше 50 % витрат господарства лягає саме на забезпечення тварин повноцінною годівлею [4, 8]. Балансувати раціони корів за всіма поживними, біологічно-активними і мінеральними речовинами необхідно не лише у період продукування молока, а й під час сухостою, коли відбувається інтенсивна підготовка