

області. *Наукові праці Чорноморського державного університету імені Петра Могили комплексу «Києво-Могилянська академія». Серія: Екологія.* 2012. Т. 179. Вип. 167. С. 92–96.

22. Полупан Ю.П., Резникова Н.Л., Полупан Н.Л. Методика оцінки ступеня фенотипової консолідованості селекційних груп тварин на популяційному рівні. *Розведення і генетика тварин.* 2011. Вип. 45. С. 207–216.

23. Мельник Ю.Ф., Пищолка В.А., Литовченко А.М. та ін. Інструкція з бонітування свиней. Інструкція з ведення племінного обліку у свинарстві К.: Київський ун-т, 2003. 64 с.

24. Барановский Д.И., Хохлов А.М., Гетманец О.М. Биометрия в MS Excel: учеб. пособие. Х.: ФЛП Бровин А.В., 2017. 228 с.

25. Полупан Ю.П. Оценка степени фенотипической консолидации генеалогических групп животных. *Зоотехния.* 1996. № 10. С. 13–15.

УДК 636.52/.58:575.113/.118

## АСОЦІАЦІЇ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ІНСУЛІНУ ТА МІОСТАТИНУ З ЖИВОЮ МАСОЮ КУРЕЙ

**Шуліка Л.В.** – м.н.с.,

Інститут тваринництва Національної академії аграрних наук

*Стаття присвячена пошуку асоціації поліморфізму генів інсуліну та міостатину з показником живої маси курей. За результатами дослідження показано, що в межах лінії 38 породи курей род-айленд червоний спостерігались розбіжності за живою масою між групами з різними генотипами за обома генами. Достовірна різниця ( $p < 0,05$ ) між групами курей із генотипами AG і GG за мутацією G2109A локусу міостатину, що становила 6,4 %, була зафіксована для живої маси на 27 тижні життя. Гомозиготи AA за мутацією A+3971G гену інсуліну характеризувались достовірно ( $p < 0,05$ ) нижчою живою масою на 31 тижні життя, порівняно з генотипами AG і GG на 8,6 і 6,7 % відповідно. За мутацією T+3737C локусу інсуліну значущих відмінностей між генотипами не виявлено.*

**Ключові слова:** поліморфізм, молекулярно-генетичні маркери, ген інсуліну, ген міостатину, жива маса, кури.

**Шуліка Л.В. Ассоциации полиморфизма генов инсулина и миостатина с живой массой кур**

*Статья посвящена поиску ассоциаций полиморфизма генов инсулина и миостатина с показателем живой массы кур. В результате исследований показано, что в пределах линии 38 породы кур род-айленд красный наблюдались различия в живой массе между группами с разными генотипами по обоим генам. Достоверная разница ( $p < 0,05$ ) между группами кур с генотипами AG и GG по мутации G2109A локуса миостатина, которая составила 6,4 %, была зафиксирована для живой массы на 27 недели жизни. Гомозиготы AA по мутации A+3971G гена инсулина характеризовались достоверно ( $p < 0,05$ ) более низкой живой массой на 31 недели жизни, в сравнении с генотипами AG и GG на 8,6 и 6,7 %, соответственно. По мутации T+3737C локуса инсулина значимых отличий между генотипами не выявлено.*

**Ключевые слова:** полиморфизм, молекулярно-генетические маркеры, ген инсулина, ген миостатина, живая масса, куры.

***Shulika L.V. Associations of insulin and myostatin genes polymorphism with chicken live body weight***

*The article is devoted to the search of associations of insulin and myostatin genes polymorphism with chicken live body weight. As a result of the investigation it was shown that within line 38 of Rhode Island Red chicken breed there were observed distinctions in live body weight between groups with different genotypes. Reliable difference ( $p < 0,05$ ) between groups of chicken with AG and GG genotypes at G2109A mutation of myostatin locus, that equals 6,4 %, was recorded for live body weight at 27 weeks of life. AA homozygotes at A+3971G mutation of insulin gene had reliably ( $p < 0,05$ ) lower live body weight at 31 weeks of life comparing with genotypes AG and GG on 8,6 and 6,7 %, respectively. For T+3737C mutation of insulin locus, no significant differences were found between genotypes.*

**Key words:** *polymorphism, molecular genetic markers, insulin gene, myostatin gene, live body weight, chicken.*

**Постановка проблеми.** Куряче м'ясо має високу поживну цінність і користується стабільно високим попитом у споживача, що зумовлює світовий розвиток птахівництва [1, с. 4; 2, с. 110]. На жаль, в Україні локальний генофонд мало задіяний у промисловому виробництві курятини, натомість щоразу закупаються фінальні гібриди кросів зарубіжної селекції [3, с. 149]. Ретельна селекційна робота, яка необхідна для підвищення конкурентоспроможності українських порід і ліній на ринку м'ясного птахівництва, потребує тривалого часу. Для підвищення ефективності та скорочення термінів селекційного процесу традиційні методи доповнюють новітніми молекулярно-генетичними, до яких належить маркер-асоційована селекція (MAS), що залучає ДНК-маркери для оцінки плеємної цінності тварин [4, с. 390; 5, с. 92]. З огляду на лінійну та популяційну специфічність більшості ДНК-маркерів [6, с. 31] існує потреба в попередній оцінці придатності того чи іншого маркера для MAS у межах конкретної лінії чи популяції.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** У випадку MAS найбільш перспективними вважаються маркери, розташовані в межах генів, які контролюють біохімічні процеси, пов'язані із формуванням продуктивних або інших ознак [7, с. 49]. Щодо м'ясної продуктивності птиці, то до таких генів-кандидатів належать гени інсуліну (*INS*) [8, с. 137] та міостатину (*MSTN*) [9, с. 179]. *INS* кодує гормон інсулін, що бере участь у регуляції метаболізму вуглеводів, ліпідів і білків [10, с. 52]. Продуктом *MSTN* є регуляторний фактор міостатин, що виступає як інгібітор росту м'язів [11, с. 2353]. Обидва гени в курей є поліморфними за ДНК-маркерами [12, с. 349; 13, с. 4]. Деякі з виявлених дослідниками мутацій можна розглядати як цільові маркери, оскільки для них показано зв'язок із м'ясною продуктивністю в окремих порід курей. Це, зокрема, мутація G2109A, розташована в першому екзоні локусу міостатину [14, с. 593], а також мутації T+3737C і A+3971G у межах другого інтрону і 3'UTR-області гену інсуліну відповідно [15, с. 984]. У попередніх дослідженнях нами було проаналізовано генетичну структуру вітчизняної синтетичної лінії курей породи род-айленд червоний за зазначеними маркерами.

**Постановка завдання.** Мета дослідження – проаналізувати асоціації генотипів за локусами міостатину та інсуліну з живою масою курей лінії 38 породи род-айленд червоний.

**Виклад основного матеріалу дослідження.** Дослідження проводили у віварії Державної дослідної станції птахівництва НААН на курах-несучках ( $n=90$ ).

Птицю утримували в індивідуальних клітках в однакових умовах, згідно з рекомендаціями з вирощування та утримання. Живу масу курей вимірювали індивідуально у віці 17, 21, 27 і 31 тиждень.

ДНК виділяли з індивідуальних зразків біологічного матеріалу (кров, перо) набором «ДНК-сорб В» (AmpliSens, RF). Визначення генотипу особин за мутаціями *MSTN* G2109A, *INS* T+3737C, *INS* A+3971G проводили методом ПЛР-ПДРФ, використовуючи для ампліфікації цільових фрагментів генів праймери, запропоновані Ye X. et al [16, с. 78] та Qiu et al [15, с. 981], а для рестрикційного аналізу – фермент MspI (SibEnzyme, RF). Рестрикційні фрагменти розподіляли в 1,5–3% агарозному гелі з додаванням бромистого етидію як барвника.

Дані аналізували загальноприйнятими методами варіаційної статистики, зважаючи на рекомендації Меркур'євої [17, с. 219] та Ребрової [18, с. 77, 101]. Зокрема, спочатку перевіряли нормальність розподілу даних у вибірці за критерієм Шапіро-Вілка. У разі, якщо розподіл відповідав нормальному, групи курей із різними генотипами порівнювали, використовуючи t-критерій Стюдента, інакше – за допомогою непараметричного U-критерію Манна-Вітні. Відмінності між групами з різними генотипами вважали достовірними при  $p < 0,05$ . Обробку даних здійснювали в середовищі програми Statistica 8.0 (StatSoft).

Варто зазначити, що особливості генетичної структури популяції накладають певні обмеження під час аналізу даних. Якщо частота генотипу є низькою та число особин із цим генотипом, виявлених у популяції, не перевищує шести, порівняння не проводять із метою уникнення некоректного результату [19, с. 37]. Наприклад, у випадку мутації *MSTN* G2109A у популяції було виявлено лише одну особину з генотипом AA. Оскільки цієї кількості недостатньо для коректного аналізу, порівняння здійснювали лише для груп курей із генотипами AG і GG.

За мутацією G2109A в локусі міостатину жива маса в середньому виявилась вищою в особин із генотипом GG, порівняно з гетерозиготами. Статистично достовірну різницю між групами курей із генотипами AG і GG, яка становила 6,4 %, показано для живої маси на 27 тижні життя, в усіх інших випадках, на жаль, величина  $p$  перевищувала порогове значення 0,05 (табл. 1).

Таблиця 1

### Асоціації генотипів за мутаціями в генах міостатину та інсуліну з живою масою курей лінії 38

Генотип	Жива маса, кг (M±m)			
	17 тижнів	21 тиждень	27 тижнів	31 тиждень
<i>MSTN</i> G2109A				
AG (n=13)	1,55±0,031	1,72±0,048	<b>1,73±0,055<sup>a</sup></b>	1,69±0,042
GG (n=76)	1,56±0,014	1,74±0,017	<b>1,84±0,015<sup>b</sup></b>	1,75±0,017
<i>INS</i> T+3737C				
CC (n=39)	1,58±0,017	1,77±0,025	1,86±0,021	1,75±0,022
CT (n=36)	1,54±0,021	1,73±0,025	1,81±0,025	1,74±0,025
TT (n=15)	1,53±0,030	1,71±0,029	1,79±0,042	1,71±0,049
<i>INS</i> A+3971G				
AA (n=7)	1,57±0,042	1,74±0,037	1,74±0,069	<b>1,63±0,068<sup>c</sup></b>
AG (n=31)	1,54±0,025	1,76±0,024	1,84±0,023	<b>1,77±0,026<sup>d</sup></b>
GG (n=52)	1,57±0,014	1,73±0,022	1,83±0,021	<b>1,74±0,020<sup>d</sup></b>

Примітка. Різниця достовірна на рівні  $p < 0,05$  для груп a і b, c і d.

За локусом інсуліну проаналізовано дві мутації (табл. 1). У випадку *INS* T+3737C достовірних відмінностей між генотипами не зафіксовано, незважаючи

на те, що протягом усього періоду спостереження зазначалось підвищення живої маси в ряді генотипів TT → CT → CC. За мутації *INS* A+3971G виявлено достовірну різницю між групою курей із генотипом AA та двома іншими генотипами за показником живої маси на 31 тижні життя, причому особини з генотипом AA в середньому характеризувались більш низькою живою масою, порівняно з гетерозиготами та гомозиготами GG (на 8,6 і 6,7 % відповідно).

Отож у межах дослідженої лінії курей мутації *MSTN* G2109A та *INS* A+3971G можна вважати придатними для використання з метою маркер-асоційованої селекції за показником живої маси птиці.

Наявні літературні дані щодо мутацій *MSTN* G2109A, *INS* T+3737C, *INS* A+3971G наведено в табл. 2. Варто зазначити, що в більшості досліджень щодо зв'язку між алельними варіантами/генотипами за поліморфізмом генів міостатину та інсуліну і живою масою курей було приділено увагу раннім віковим етапам (7, 28, 110 днів життя тощо), на відміну від аналізу, проведеного нами, який охоплює термін із 119 (17 тижнів) по 217 день життя (31 тиждень). Тож, на жаль, пряме порівняння даних, отриманих у дослідженні, з літературними не вбачається можливим.

Таблиця 2

**Порівняльний аналіз літературних даних щодо асоціацій генотипів за мутаціями генів *MSTN* та *INS* з живою масою курей**

Порода / лінія / популяція	Країна	Показник	Вплив генотипу	Джерело
<b><i>MSTN</i> G2109A</b>				
Line X <sup>1</sup>	Китай	жива маса в 7 днів	p<0,05	[16, с. 84]
		жива маса в 40 днів	p<0,05	
Line Z <sup>1</sup>		жива маса в 7 днів	p<0,05	
		жива маса в 40 днів	NS <sup>2</sup>	
Pushkin breed (Пушкінська порода)	Росія	жива маса в 7 днів	NS <sup>2</sup>	[20, с. 26]
		жива маса в 49 днів	NS <sup>2</sup>	
		жива маса в 110 днів	NS <sup>2</sup>	
Yurlov breed (Юрловська голосиста порода)	Росія	жива маса в 7 днів	NS <sup>2</sup>	[21, с. 41]
		жива маса в 49 днів	NS <sup>2</sup>	
		жива маса в 110 днів	NS <sup>2</sup>	
<b><i>INS</i> T+3737C</b>				
White Recessive Rock x Xinghua (F <sub>2</sub> )	Китай	жива маса при виведенні	NS <sup>2</sup>	[15, с. 984]
		жива маса в 28 днів	p<0,05	
		жива маса в 56 днів	p<0,05	
		жива маса в 84 дні	NS <sup>2</sup>	
<b><i>INS</i> A+3971G</b>				
White Recessive Rock x Xinghua (F <sub>2</sub> )	Китай	жива маса при виведенні	p<0,001	[15, с. 984]
		жива маса в 28 днів	p<0,001	
		жива маса в 56 днів	p<0,05	
		жива маса в 84 дні	NS <sup>2</sup>	

Примітки: 1. X, Z – комерційні лінії бройлерів. 2. NS – різниця між генотипами недостовірна.

Водночас необхідно зауважити, що розбіжності у величині живої маси залежно від генотипу проявляються по-різному в межах різних порід/ліній/популяцій,

що може вказувати на породо-, лінійну і навіть популяційну специфічність вивчених ДНК-маркерів. Наприклад, у випадку мутації *MSTN* G2109A жива маса курей, що належать до комерційних ліній бройлерів, у віці 7 днів перебувала в залежності від генотипу [16, с. 84], а для курей Пушкінської та Юрловської голосистої порід такої залежності не виявлено [20, с. 26; 21, с. 41]. Окрім того, варто зазначити, що для дослідженої нами лінії 38 позитивний ефект спостерігався для генотипу GG (і, відповідно, алеля G), тоді як інші дослідження (на птиці китайської селекції) показали позитивний ефект алеля A [16, с. 84]. Наведені дані можуть свідчити про обумовленість вияву ефекту маркерної мутації особливостями генетичного фону в порід різного походження або внаслідок її зчеплення з однією чи більше цільовими мутаціями.

Подібна ситуація спостерігається й у випадку мутації T+3737C у локусі інсуліну. А саме для лінії 38 не було виявлено асоціацій із живою масою, тоді як у літературі показано їхню наявність для китайських популяцій курей [15, с. 984]. Водночас, можливо, для цієї мутації ефект виявляється лише в ранньому віці. Остаточне вирішення цього питання потребує подальших досліджень. Щодо мутації *INS* A+3971G, то отримані в дослідженні результати корелюють із літературними даними, у яких теж показано зв'язок алельних варіантів із живою масою (табл. 2).

**Висновки і пропозиції.** Для лінії 38 породи род-айленд червоний показано, що за мутацією G2109A гену міостатину особини з генотипом GG в середньому характеризуються на 6,4 % вищою живою масою на 27 тижні життя, ніж гетерозиготні особини. За мутацією *INS* A+3971G помічено достовірно нижчу живу масу на 31 тижні життя в особин з генотипом AA, порівняно з гетерозиготами AG і гомозиготами GG (на 8,6 і 6,7 % відповідно). За мутацією *INS* T+3737C достовірної різниці між особинами з різними генотипами в період з 17 по 31 тиждень життя не спостерігали. Виявлені закономірності пропонується використовувати для розроблення селекційних програм із залученням маркер-асоційованої селекції в межах лінії 38 породи курей род-айленд червоний.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Катеринич О.О., Панькова С.М., Терещенко О.В. та ін. Вирощування, утримання та годівля яєчних та м'ясо-яєчних курей: наук.-практ. посібник. Бірки, 2017. 64 с.
2. OECD-FAO Agricultural Outlook 2017–2026. OECD/FAO. Paris: OECD Publishing, 2017. 140 p.
3. Вертійчук А.І. Стан племінної роботи у птахівництві України. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2010. № 3 (72). С. 149–152.
4. Kulibaba R.A., Podstreshnyi A.P. Prolactin and growth hormone gene polymorphisms in chicken lines of Ukrainian selection. *Cytology and Genetics*. 2012. № 46 (6). P. 390–395.
5. Копилов К.В. Стан і перспективи використання генотипного маркування в селекції тварин. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2010. № 8 (1). С. 91–98.
6. Fulton J.E. Genomic selection for poultry breeding. *Animal Frontiers*. 2012. № 2 (1). P. 30–36.

7. Зиновьева Н.А., Кленовицкий П.М., Гладырь Е.А., Никишов А.А. Современные методы генетического контроля селекционных процессов и сертификация племенного материала в животноводстве: учеб. пособие. Москва: РУДН, 2008. 329 с.
  8. Xu Z., Nie Q., Zhang X. Overview of Genomic Insights into Chicken Growth Traits Based on Genome-Wide Association Study and microRNA Regulation. *Current genomics*. 2013. № 14 (2). P. 137–146.
  9. Mitrofanova O.V., Dementeva N.V., Krutikova A.A. et al. Association of Polymorphic Variants in MSTN, PRL, and DRD2 Genes with Intensity of Young Animal Growth in Pushkin Breed Chickens. *Cytology and Genetics*. 2017. № 51 (3). P. 179–184.
  10. Dupont J., Tesseraud S., Simon J. Insulin signaling in chicken liver and muscle. *General and Comparative Endocrinology*. 2009. № 163. P. 52–57.
  11. Mirhoseini S.Z., Zare J. The role of myostatin on growth and carcass traits and its application in animal breeding. *Life Science Journal*. 2012. № 9 (3). P. 2353–2357.
  12. Nie Q., Lei M., Ouyang J. et al. Identification and characterization of single nucleotide polymorphisms in 12 chicken growth-correlated genes by denaturing high performance liquid chromatography. *Genetics Selection Evolution*. 2005. № 37. P. 339–360.
  13. Baron E.E., Wenceslau A.A., Alvares L.E. et al. High level of polymorphism in the myostatin chicken gene. *Proceedings of the 7th World Congress on genetic applied to livestock production (Montpellier, France, Section 4)*. 2002. P. 1–4.
  14. Zhu Z., Wu D.J., Xu N.Y. SNPs of myostatin gene and its genetic effects on carcass traits in chicken. *Yi Chuan (Hereditas)*. 2007. № 29 (5). P. 592–598.
  15. Qiu F.F., Nie Q.H., Luo C.L. et al. Association of Single Nucleotide Polymorphisms of the Insulin Gene with Chicken Early Growth and Fat Deposition. *Poultry Science*. 2006. № 85. P. 980–985.
  16. Ye X., Brown S.R., Nones K. et al. Associations of myostatin gene polymorphisms with performance and mortality traits in broiler chickens. *Genetics Selection Evolution*. 2007. № 39. P. 73–89.
  17. Меркурьева Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных. Москва: «Колос», 1970. 424 с.
  18. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва: «МедиаСфера», 2002. 312 с.
  19. Белая Е.В., Михайлова М.Е. Оценка ассоциации полиморфных генов соматотропинового каскада с уровнем продуктивности крупного рогатого скота. *Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук*. 2014. № 4. С. 36–42.
  20. Митрофанова О.В., Дементьева Н.В., Тыщенко В.И. и др. Связь генотипов по однонуклеотидным заменам в гене миостатина с показателями живой массы у кур Пушкинской породы. *Генетика и разведение животных*. 2014. № 4. С. 25–28.
  21. Митрофанова О.В., Дементьева Н.В., Тыщенко В.И. и др. Связь генотипов по однонуклеотидным заменам в гене миостатина с показателями живой массы у кур Юрловской голосистой породы. *Генетика и разведение животных*. 2015. № 1. С. 39–42.
-