

АНАЛІЗ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНЕТИКО-БІОХІМІЧНИХ СИСТЕМ У ОВЕЦЬ УКРАЇНСЬКОЇ ГІРСЬКОКАРПАТСЬКОЇ ПОРОДИ

¹ Т. В. Чокан, ² А. Е. Луньова, ² Н. О. Борисенко, ² С. І. Тарасюк

¹ Інститут біології тварин УААН

² Інститут рибного господарства УААН

Проведено порівняльний аналіз генетичної структури двох внутрішньопородних типів овець української гірськокарпатської породи: передкарпатського і закарпатського та батьківської – цигайської породи. З 9 досліджених генетико-біохімічних систем чотири, а саме трансферин, посттрансферин, гемоглобін, пурипнуклеозидфосфорилаза виявилися поліморфними, тоді як церулоплазмін, амілаза, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, малатдегідрогеназа, фосфоглюкомутаза – мономорфні. Виявлено локуси, які є нейтральними до впливу факторів добору, зокрема це гемоглобін і посттрансферин, тоді як локуси трансферину і пурипнуклеозидфосфорилази втягуються в процеси диференціації. Отримані результати дозволяють припустити наявність стабільності породоспецифічних характеристик за окремими локусами в часі, що є наслідком впливу факторів штучного добору.

Ключові слова: ГЕНЕТИКО-БІОХІМІЧНІ СИСТЕМИ, ПОЛІМОРФІЗМ, ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА, ЛОКУСИ, ВІВЦІ, ПОРОДИ, БІЛКИ, ФЕРМЕНТИ, ГЕНЕТИЧНІ ВІДСТАНІ.

Інтенсифікація сільського господарства потребує різкого прискорення генетичного удосконалення популяцій тварин. Це неможливо без розробки принципово нових систем селекційно-плеємної роботи, зокрема, без використання останніх досягнень і методів молекулярної генетики. У даний час особливо актуальним є пошук нових підходів до удосконалення існуючих порід тварин, які в умовах сучасного ведення тваринництва повинні володіти високим потенціалом продуктивності і пристосованістю до промислових технологій. Це пояснюється збільшенням ролі селекції, яка направлено змінює ознаки і властивості тварин. Тому застосування селекційних програм схрещування і гібридизації є одним з методів підвищення генетичного потенціалу продуктивності тварин. Значна увага при цьому приділяється отриманню багатопородних помісей, оскільки вони за комерційними показниками переважають чистопородні і двохпородні помісі [1].

В Україні шляхом тривалого відтворювального схрещування місцевих грубововнових гірськокарпатських маток з баранами цигайської породи і наступним розведенням бажаного типу «в собі» була створена українська гірськокарпатська порода овець. У процесі селекційно-плеємної роботи було виділено два внутрішньопородних типи — передкарпатський і закарпатський, які різняться між собою походженням та деякими показниками продуктивності. Це тварини комбінованого вовново-молочно-м'ясного-овчинного напрямку, невеликі, мають міцну конституцію і пропорційний тілосклад, добре пристосовані до важких специфічних кліматичних умов Карпат. Розводиться порода на території передгірських та гірських районів Закарпатської, Івано-Франківської, Львівської та Чернівецької областей.

Лише гірськокарпатські вівці в Україні продукують білу килимову вовну яка за своєю якістю не поступається імпортованим зразкам і має багатостороннє застосування. Зокрема, її використовують для виробництва гладких і ворсових килимів, штучного хутра, пальтових тканин, трикотажу та іншої продукції. Крім того, з молока отримують цінний сир — бринзу, а після забою овець — м'ясо і овчину відмінної якості, які використовуються для виготовлення кожухово-хутряних виробів [3].

Вивчення змін генетичної структури в часі ізольованих груп тварин певної породи, з одного боку, необхідне для контролю змін генетичного потенціалу, небезпечних для малочисельної породи. З іншого боку, вивчення динаміки генетичної структури містить цінну інформацію про процеси, які відбуваються в ізольованих популяціях під впливом природного та штучного добору в різних еколого-географічних зонах.

Тому з метою аналізу генетичної структури двох типів української гірськокарпатської породи овець в порівнянні з батьківською цигайською породою та виявлення окремих генетико-біохімічних систем, стабільних в часі, які контролюють різні ланки метаболічних процесів в організмі, були проведені дослідження з використанням молекулярно-генетичних маркерів.

Матеріали і методи

Досліджували генетичну структуру овець двох внутрішньопородних типів української гірськокарпатської породи: закарпатського (СФГ «Банський», с. Луг, Рахівського р-ну, Закарпатської обл. — 20 гол, матеріал відібрано в 2008 р.), та передкарпатського (СФГ «Перлина Карпат» Косівський р-н, Івано-Франківська обл. — 30 гол. 1994 р.), а також цигайської породи – (АСГП «Прогрес» Івано-Франківської обл. — 36 гол. 1995 р.).

Для вивчення генетичної структури різних груп овець виконано аналіз генетично детермінованого поліморфізму наступних генетико-біохімічних систем: транспортні білки — TF (трансферин), PTF-2 (посттрансферин), Hb (гемоглобін), Cr (церулоплазмін), Am (амілаза), Pn (К.Ф.2.4.2.1) пурипуриннуклеозидфосфорилаза, ключовий фермент пентозофосфатного шляху — глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа G-6-PD (К.Ф.1.1.1.49), ферменти циклу Кребса — малатдегідрогеназа MDR (К.Ф.1.1.1.37), ферменти гліколізу — фосфоглюкомутаза PGM (К.Ф.2.7.5.1) [2].

Дослідження проводили на еритроцитах і плазмі крові. Кров для дослідження брали із яремної вени в пробірки з гепарином, центрифугували (3000 об., 15 хв.), після чого відбирали плазму. Еритроцити промивали три рази фізрозчином. Поліморфізм білків і ферментів досліджували методом електрофоретичного розділення білків в крохмальному гелі (13–14 %) в горизонтальних камерах з наступним гістохімічним фарбуванням [3–5].

Алельні варіанти спектру загального білка (TF, PTF-2) виявляли методом вертикального електрофорезу в акриламідному гелі, який являє собою модифіковану методику на основі Gahne, 1977 [6].

Обробку даних (розрахунки генетичних відстаней за методом М.Нея, оцінку генної рівноваги у відповідності з законом Харді-Вайнберга, кластерний аналіз, дендрограма генетичних відстаней) проводили за допомогою комп'ютерної програми «BIOSYS-1» [7].

Результати та обговорення

При аналізі генетичної структури встановлено, що для усіх досліджених груп овець характерні свої породоспецифічні особливості генетичної структури (табл.1). За результатами аналізу дев'яти досліджених генетико-біохімічних систем мономорфними виявились: Cr (церулоплазмін), Am (амілаза), G-6-PD (глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа), MDR (малатдегідрогеназа), PGM (фосфоглюкомутаза).

У досліджених груп овець виявлений генетично детермінований поліморфізм за такими генетико-біохімічними системами: гемоглобін (Hb) два алельних варіанта, HbA та HbB, які відрізняються за електрофоретичною рухливістю у крохмальному гелі. Найбільшу частоту зустрічаємості алельного варіанту B – 0,808 виявили в цигайській породі (1995р). За цим локусом в групі української гірськокарпатської породи із селянсько-фермерського господарства «Перлина Карпат» Івано-Франківської області спостерігали статистично достовірний надлишок гомозигот та дефіцит гетерозигот відносно очікуваного у відповідності з законом Харді-Вайнберга ($P > 99,9$).

Таблиця 1

Алелі	Групи овець		
	Цигайська порода	Українська гірськокарпатська (закарпатський тип)	Українська гірськокарпатська (передкарпатський тип)
TF	n – 36	n – 19	n – 30
A	0,104	0,053	0,228
B	0,146	0,158	0,186
C	0,229	0,447	0,171
D	0,507	0,342	0,343
E	0,007	0,000	0,029
P	0,007	0,000	0,043
PTF-2	n – 10	n – 19	n – 30
F	0,500	0,737	0,623
S	0,500	0,263	0,377
НВ	n – 36	n – 20	n – 30
A	0,192	0,400	0,229
B	0,808	0,600	0,771
PN	Фенотип, %	Фенотип, %	Фенотип, %
H	92	30	60
L	8	70	40

За локусом трансферину (TF) виявлено 6 алельних варіантів Tf A, Tf B, Tf C, Tf D, Tf E, Tf P. Найбільша генна частота за локусом TF A була відмічена в українській гірськокарпатській породі передкарпатського типу. Висока частота алельного варіанту D (0,507) виявилась у цигайській породі. Враховуючи наявність літературних даних, в яких виявлений зв'язок змін генетичної структури овець за локусом TF з дією різних факторів штучного та природного відбору [1], можна очікувати, що різке збільшення частоти зустрічаємості Tf C (0,447) в українській гірськокарпатській породі закарпатського типу може бути наслідком селекційної роботи.

За локусом пострасферину-2 спостерігали два алельні варіанти — pTf F і Tf S. Виявлена перевага швидко мігруючого варіанту в українській гірськокарпатській породі з СФГ «Банський» Закарпатської області (0,733). Звертає на себе увагу локус pTf в групі української-гірськокарпатської породи (1994 р.): у тварин спостерігали статистично достовірний дефіцит гомозит pTf FS відносно очікуваного у відповідності з законом Харді-Вайнберга.

За локусом пуриннуклеозидфосфорилази виявлено два алельні варіанти: з високою (H) і низькою активністю (L). Перевага алельного варіанту пуриннуклеозидфосфорилази з високою активністю виявлена в овець цигайської породи NP H (92 %). У процесі розведення спостерігається зниження частоти зустрічальності пуриннуклеозидфосфорилази у гірськокарпатській породі овець (30 %).

Гетерозиготність з часом знижується за усіма дослідженими локусами. В усіх досліджених груп найменша гетерозиготність виявлена за локусом гемоглобіну.

За даними, наведеними в таблиці 2 видно, що серед досліджених груп овець найбільший рівень середньої гетерозиготності на локус спостерігали в закарпатського типу української гірськокарпатської породи (0,432), що свідчить про досить високий розмах генетичної мінливості даного породного типу.

Таблиця 2

Рівень середньої гетерозиготності у овець на локус (He) за поліморфними генетико-біохімічними системами

Групи овець	He	S.E.
Цигайська порода	0,364	0,063

Українська гірськокарпатська (закарпатський тип)	0,432	0,081
Українська гірськокарпатська (передкарпатський тип)	0,259	0,171

He – рівень середньої гетерозиготності на локус
S.E. – стандартна помилка середньо-популяційних значень

Розраховані генетичні відстані між дослідженими породами овець на основі генетичних дистанцій (М. Ней). Генетичні відстані коливались у значних межах (табл. 3). Аналіз генетичних відстаней показав міжгрупові відмінності у досліджених груп овець. Незначними були відмінності між групами тварин української гірськокарпатської породи різних типів (0,040).

Таблиця 3

Генетичні відстані (вище діагоналі, М. Ней, 1972) та індекс ідентичності (нижче діагоналі, М. Ней, 1978), розраховані між групами овець за поліморфними системами

Групи овець			
	1	2	3
Українська гірськокарпатська передкарпатський тип УГК (ПТ)	****	0,040	0,064
Українська гірськокарпатська закарпатський тип УГК (ЗТ)	0,038	****	0,070
Цигайська порода	0,042	0,050	****

На основі індексу ідентичності побудовано дендрограму, що дозволяє оцінити генетичну спорідненість досліджених груп овець (рис 1).

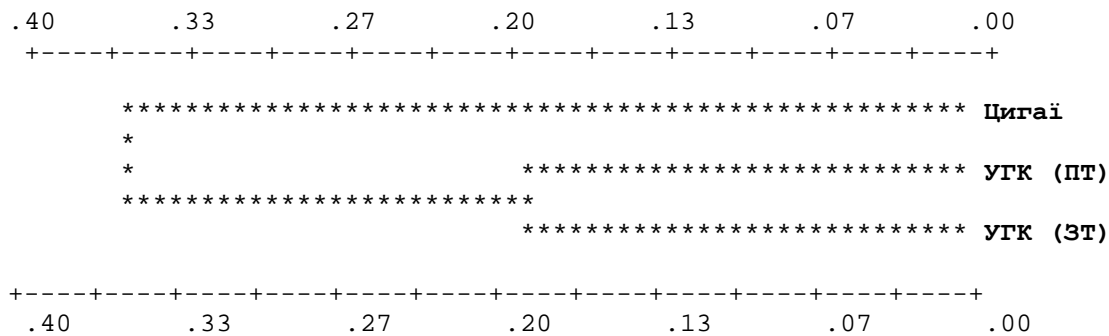


Рис.1 Дендрограма генетичних взаємовідношень між групами овець

Кластерний аналіз показав, що за генетико-біохімічними системами групи овець розподілились на два кластери. Групи овець української гірськокарпатської породи утворюють один кластер, а цигайська порода утворює інший кластер.

Загалом, отримані дані свідчать про досить незалежну мінливість окремих генетико-біохімічних систем в зв'язку з дією різних факторів відбору. Одним із локусів, який впливає на відносну стабільність у часі є локус НВ, що вірогідно пов'язано з результатами селекційної роботи.

Висновки

Проведений порівняльний аналіз генетичної структури різних типів української гірськокарпатської породи овець з вихідною — цигайською з використанням молекулярно-генетичних маркерів. Встановлено, що існують відмінності між досліджуваними групами овець. При аналізі генетичної структури двох типів овець української гірськокарпатської породи, які відрізняються за часом досліджень, не виявлено значних відмінностей за винятком локусу трансферину та пуриннуклеозидфосфорилази. Отримані результати дозволяють припустити наявність стабільності породоспецифічних характеристик за

окремими локусами в часі. Вважається, що найімовірнішими причинами які впливають на їх стабільність є фактори штучного добору.

T. Chokan, A. Lyniova, N. Borisenko, S. Tarasjuk

THE ANALYSIS OF POLYMORPHISM OF GENETIC AND BIOCHEMICAL SYSTEMS IN SHEEP OF UKRAINE MOUNTAIN CARPATHIAN BREED

S u m m a r y

It was carried out the comparative analysis of genetic structure of two interbreed types of Ukrainian Mountain Carpathian breed of sheep: pre-carpathian and transcarpathian and paternal — Tsyhay breeds. From 9 investigated genetic and biochemical system four namely: transferrine, post- transferrine, haemoglobine, purinnucleosidphosphorilase, are found out polymorphous, while ceruloplasmin, amilasa, glucose-6-phosphat dehydrogenase, malate dehydrogenase, phosphomutase — monomorphic. It was also found out lokus, which are neutral to the influence of selection factors, especially haemoglobine and post- transferrin, while locus of transferrin and purinnucleosidphosphorilase pull into the processes of differentiation. Received results let assume stability availability of breed- specific characteristics by separate locus in time, that is the result of influence of some factors of artificial selection.

T. V. Чокан, А. Е. Луньова, Н. О. Борисенко, С. І. Тарасюк

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНЕТИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ СИСТЕМ У ОВЕЦ УКРАИНСКОЙ ГОРНОКАРПАТСКОЙ ПОРОДЫ

А н н о т а ц и я

Проведен сравнительный анализ генетической структуры двух внутривидовых типов овец украинской горнокарпатской породы: предкарпатского, закарпатского и отцовской — цыгайской. Из 9 исследуемых генетико-биохимических систем четыре, а именно трансферрин, посттрансферрин, гемоглобин, пуриноклеозидфосфорилаза оказались полиморфными в то время как церулоплазмин, амилаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, фосфоглюкомутаза — мономорфными. Определены локусы, которые являются нейтральными, к влиянию факторов отбора, в частности это гемоглобин и посттрансферрин, в то время как локусы трансферрина и пуриноклеозидфосфорилазы втягиваются в процессы дифференциации. Получены результаты позволяют допустить наличие стабильности породоспецифических характеристик по отдельным локусам во времени, что является следствием воздействия факторов искусственного отбора.

1. *Глазко В. И.* Генетика изоферментов животных и растений [Текст] : Глазко В. И., Созинов И. А. ; Под ред. А. А. Созинова. — Киев: Урожай, 1993. — 528 с.

2. *Глазко В. И.* Биохимическая генетика овец [Текст] / В. И. Глазко. — Новосибирск: Наука, 1985. — 167 с.

3. *Макар І. А.* Біологічні та господарсько-корисні ознаки гірськокарпатських овець з вовною природного забарвлення [Текст] / Макар І. А., Гуменюк В. В., Мартишук М. В., Седіло Г. М., Федьків О. О. — Львів: Афіша, 2004. — С. 12–14.

4. *Beckman J. S.* Molecular marker in the genetic improvement of farm animals [Text] : Beckman J. S., Soller M. / Biotegnology. —1987. — V. 5. — P. 573–576.

5. *Harris H.* Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics [Text] : Harris H., Hopkinson D. A. — Amsterdam: North-Holland Publ. Comp., — 1976. — P. 680.

6. *Lee R. M.* Genetic control of the hydrolysis of aromatic esteras by sheep plasma A-esterase [Text] : *Genet.Res.*, – 1966. – 7. – V. 3. – P. 373–382.

7. *Gahne B.* Horizontal polyacrylamide gradient gel elelectrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle [Text] : *Gahne B., Juneja R. K., Grolmus J. Anim Blood Group Biochem Genet.* – 1977. – 8. – V. 3. –P. 127–137.

8. *Swofford D. L.* BIOSYS-1: a Fortain programm for the comprehensive analysis of electroforetic data in population genetics and systematics [Text] : *Swofford D. L., Selander R. B. J. Heredity.* – 1981. – V. 72. – P. 281–283.