

## ОСОБЛИВОСТІ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ВНУТРІШНЬОПОРОДНИХ ГРУП ОВЕЦЬ З РІЗНИМ КОЛЬОРОМ ВОВНИ

Т. В. Чокан<sup>1</sup>, П. В. Станай<sup>1</sup>, С. І. Тарасюк<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН України

<sup>2</sup>Інститут рибного господарства НААН України

*Досліджено специфіку генетичної структури внутрішньопородних груп гірськокарпатських овець з різним кольором вовнового покриву, що відтворюються на території українських Карпат, за молекулярно-генетичними маркерами. Виявлено структуру генофонду, яка характерна для груп овець різної селекції. Показано зміни розподілу частот алелей поліморфних генетико-біохімічних систем залежно від кольору вовнового покриву. Окремі генетико-біохімічні системи, зокрема Tf та PN, можуть служити маркерами специфічних особливостей генетичної структури тварин досліджених груп. Дослідження вітамін D зв'язуючого білка у крові гірськокарпатських овець було проведено вперше. За локусом рецептора до вітаміну D виявлені два алельних варіанти — Gc A і Gc B, три генотипи — AA, AB, BB. Суттєвих міжгрупових різниць не встановлено, хоча алельний варіант Gc B частіше зустрічався у тварин з білою вовною.*

**Ключові слова:** ВІВЦІ, ПОРОДА, БІЛКИ, ФЕРМЕНТИ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ, ПОЛІМОРФІЗМ, ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА

Проблема специфічних особливостей генетичної структури різних порід і внутрішньопородних груп овець є предметом значної кількості досліджень. Передбачається, що її вивчення дасть можливість уточнювати історію походження порід, виявляти молекулярно-генетичні маркери, тісно зчеплені з господарськочисними ознаками, використовувати їх як додаткову породну характеристику. У той же час, питання впливу біотичних та абіотичних факторів екологічних змін, в яких відтворюються тварини, на їх генетичну структуру, до цих пір залишаються недостатньо дослідженими.

Одним з методів оцінки впливу, зокрема, умов розведення тварин у нових умовах, може бути аналіз генетичної структури породи, вивчення популяційно-генетичних механізмів адаптації тварин до нових умов. Такий аналіз може мати не тільки прикладний характер для сучасного тваринництва, а й фундаментально-теоретичний, пов'язаний з виявленням унікальних характеристик локальних порід у порівнянні з новоствореними породами [1].

Значне скорочення поголів'я овець та відсутність чіткої селекційно-племінної роботи в нашій країні, веде до часткової, а в деяких випадках і повної втрати окремих генофондів локальних порід. Інтенсифікація селекційного процесу прискорює поглинання неконкурентоспроможного племінного матеріалу, яким у першу чергу є саме місцеві (аборигенні) породи, зменшується їхня чисельність, у наслідок чого стрімко звужується природна різноманітність тварин [2]. Використання при схрещуванні імпортованих порід не вирішує загальної проблеми відновлення та розвитку вівчарської галузі, натомість призводить до втрати цінних особливостей місцевих порід, збільшення кількості захворювань, в тому числі і спадково обумовлених [3].

У гірській зоні Карпатського регіону розводили місцевих гірськокарпатських овець, які добре адаптовані до важких кліматичних умов, невибагливі та забезпечували місцеве

населення продуктами харчування, предметами одягу, сировиною для народних промислів. Починаючи з середини минулого сторіччя 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. При покращенні гірськокарпатських овець був взятий напрям на виробництво лише білої вовни, що виходило з потреб текстильної промисловості. Тварини з пігментованою вовною (чорні, сірі, відтінки шоколадного) підлягали вибракуванню, або були зосереджені в приватному секторі. Після припинення існування великих господарств та цілеспрямованої селекційної роботи, відсоток кольорових особин збільшувався і цей процес триває й донині [4].

Тому актуальною є оцінка генетичної структури гірськокарпатських овець з різним кольором вовнового забарвлення, її моніторинг з використанням молекулярно-генетичних маркерів структурних генів. Вивчення та аналіз генетичної структури є необхідним для контролю змін генетичного потенціалу і містить інформацію про процеси, які відбуваються в популяціях під впливом природного та штучного добору.

З метою аналізу генетичної структури популяції гірськокарпатських овець з вовною природного забарвлення нами проведені дослідження з використанням молекулярно-генетичних маркерів окремих генетико-біохімічних систем.

### **Матеріали і методи**

Досліджували генетичну структуру гірськокарпатської породи овець з різним кольором вовнового забарвлення: білим, сірим і чорним. Матеріал брали від повновікових вівцематок СФГ «Банський» с. Луг Рахівського р-ну (45 голів), та СФГ «Салдобош» с. Стеблівка Хустського р-ну Закарпатської обл. (46 голів) за період 2007–2009 років.

Для вивчення генетичної структури різних груп овець виконано аналіз генетично детермінованого поліморфізму наступних генетико-біохімічних систем: транспортні білки — ТФ (трансферин), РТФ-2 (посттрансферин), НВ (гемоглобін), рецептор до вітаміну D (GC D), ферменти внутріклітинного метаболізму — 6-фосфоглюконатдегідрогеназа 6-PGD (К.Ф.1.1.1.44.), глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа G-6-PD (К.Ф.1.1.1.49.), ферменти метаболізму екзогенних субстратів — Es естерази плазми: арилестераза (К.Ф.3.1.1.2.), аденілкіназа АК (К.Ф.2.7.4.3.), креатинкіназа КК (К.Ф.2.7.3.2.), гексокіназа GK (К.Ф.2.7.1.1.), ферменти циклу Кребса — малатдегідрогеназа MDH (К.Ф.1.1.1.37.), ферменти гліколізу — фосфоглюкомутаза PGM (К.Ф.2.7.5.1.), фермент метаболізму пуринових основ — пуриннуклеозидфосфорилаза PN (К.Ф.2.4.2.1.) [5].

Дослідження проводили на еритроцитах і плазмі крові. Кров брали з яремної вени в пробірці з гепарином з подальшим центрифугуванням (3000 об., 15 хв), після чого відбирали плазму. Еритроцити відмивали три рази фізрозчином. Поліморфізм білків і ферментів оцінювали за допомогою методів електрофоретичного розділення білків у крохмальному гелі (13–14%) в горизонтальних камерах з наступним гістохімічним фарбуванням [6, 7]. Алельні варіанти спектру транспортних білків виявляли методом вертикального електрофорезу в поліакриламідному гелі за Ганне [8]. Математичну обробку даних (розрахунки генетичних відстаней за методом М.Нея, оцінка генної рівноваги у відповідності з законом Харді-Вайнберга, кластерний аналіз, дендрограма генетичних відстаней) виконували за допомогою комп'ютерної програми «BIOSYS-1» [9].

### **Результати й обговорення**

За результатами аналізу тринадцяти досліджених генетико-біохімічних систем мономорфними виявились: малатдегідрогеназа MDH, фосфоглюкомутаза PGM, аденілкіназа

АК, креатинкіназа КК, гексокіназа GK, 6-фосфоглюко-натдегідрогеназа 6-PGD, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа G-6-PD.

У піддослідних груп овець нами виявлено локуспецифічні особливості будови генетичної структури (табл. 1). Генетично детермінований поліморфізм був встановлений за такими генетико-біохімічними системами: гемоглобін (Hb) — два алельних варіанти (HbA та HbB), які відрізняються за електрофоретичною рухливістю у крохмальному гелі. Суттєвої різниці не спостерігали, хоча найбільшу частоту повторюваності алельного варіанту B (0,600) виявили у тварин з чорною вовною.

За локусом трансферину (TF) виявлено чотири алельні варіанти: Tf A, Tf B, Tf C, Tf D. Найбільша генна частота за локусом Tf A була відмічена у тварин з чорною вовною — 0,250, тоді як у білих — 0,067. Алельний варіант Tf B частіше зустрічався у вівцематок з білою вовною (0,250) при практично однаковій кількості у сірих (0,177) та чорних (0,167). Зворотню картину спостерігали за частотою алельного варіанту D: найменшою вона була у чорних тварин (0,100), тоді як у сірих (0,210) та білих (0,233) — у два рази більшою.

Таблиця 1

Генетична структура овець за поліморфними генетико-біохімічними системами

Локус, алелі	Група овець		
	Білі	Сірі	Чорні
<b>TF</b>	n — 30	n — 31	n — 30
A	0,067	0,194	0,250
B	0,250	0,177	0,167
C	0,450	0,419	0,483
D	0,233	0,210	0,100
<b>PTF-2</b>	n -30	n - 30	n -30
F	0,700	0,600	0,717
S	0,300	0,400	0,283
<b>HB</b>	n — 30	n — 30	n — 30
A	0,450	0,433	0,400
B	0,550	0,567	0,600
<b>EST</b>	n — 30	n — 31	n — 30
A	867	823	850
B	133	177	150
<b>GC</b>	n — 30	n — 30	n — 30
A	400	467	467
B	600	533	533
<b>PN</b>	Фенотип, % n —30	Фенотип, % n — 30	Фенотип, % n — 30
H	27	72	40
L	73	28	60

При аналізі електрофореграм за локусом постртрансферину-2 спостерігали два алельні варіанти — pTf F і pTf S і три фенотипи — FF, FS та SS. Міжгрупової різниці за цими показниками не спостерігали.

У плазмі крові хребетних виявлений специфічний білок, який зв'язує метаболіти вітаміну Д з високою специфічністю. Він був названий DBP (vitamin D binding protein) — вітамін Д зв'язуючий білок. Основна функція цього білка — зв'язування, розчинення і транспорт метаболітів до клітин-мішеней. DBP (або GC) — поліморфний сироватковий білок, експресується і секретується печінкою, складається з 458 амінокислот і має третинну структуру, специфічно зв'язує метаболіти вітаміну Д. Є дослідження, виконані на різних групах людей, у яких виявляється певна асоціація між наявністю окремих алельних варіантів цього білка і сприйнятливістю або стійкістю до деяких захворювань (ВІЛ-інфекція, діабет), але таких зв'язків не було доведено [10].

Дослідження вітаміну Д зв'язуючого білка у крові гірськокарпатських овець нами було проведено вперше. За локусом рецептора до вітаміну Д виявлені два алельні варіанти — Gc A і Gc B, три генотипи — AA, AB, BB, що відрізняються за електрофоретичною рухливістю в поліакриламідному гелі. Суттєвої міжгрупової різниці за цим показником не встановлено, хоча алельний варіант Gc B частіше зустрічався у тварин з білою вовною.

Використовуючи при фарбуванні суміш субстратів (альфа- і бетанафтилацетату) в різних концентраціях, нами був виявлений поліморфізм за субстратною специфічністю естерази плазми крові — арилестерази. На фореграмі спостерігали два фенотипи, які різнилися за забарвленням (червоне — RR та червоно-темно-коричневе — RB). Міжгрупової різниці не спостерігали.

За локусом пуриннуклеозидфосфорилази виявлено два алельні варіанти: з високою (H) і низькою активністю (L). Перевага алельного варіанту пуриннуклеозидфосфорилази з високою активністю характерна для тварин з сірою вовною 72 %, тоді як у білих 27 % і чорних 40 %.

Таблиця 2

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

Група овець	He	S.E.
Білі	0,456	0,061
Сірі	0,488	0,057
Чорні	0,487	0,058

*Примітка:* He — рівень середньої гетерозиготності на локус, S.E. — стандартна помилка середньо-популяційних значень

Однією з важливих генетичних характеристик популяції, яка відображає її генетичну мінливість та генетичний потенціал, є гетерозиготність. Аналізуючи дані рівня середньої гетерозиготності на локус досліджених груп тварин встановлено, що він найбільший у овець з вовною сірого (0,488) та чорного (0,487) кольорів, що свідчить про складні генетичні процеси, які проходять у породі.

Отримані дані свідчать, що внутрішньопородні групи овець підрозділяються на групи, що відрізняються один від одного за частотою зустрічності окремих алельних варіантів, а саме локус TF та NP, і відповідно гетерозиготності даних локусів.

Таблиця 3

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

Група овець			
Білі	****	0,038	0,012
Сірі	0,031	****	0,023
Чорні	0,004	0,015	****

Генетичні відстані між тваринами різних груп, розраховані на основі генетичних дистанцій (М. Ней), показали генетичну спорідненість овець з білим та чорним вовновим покривом (найменші генетичні відстані — 0,012).

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

Кластерний аналіз показав, що за генетико-біохімічними системами групи овець розподілилися на два кластери: тварини з білим та чорним кольором вовни — один, а сірі — інший. На дендрограмі група чорних овець, для яких характерна низька частота зустрічності пуриннуклеозидфосфорилази з високою активністю, якимось чином є ближчі за походженням до тварин з білою вовною і об'єднуються з ними.

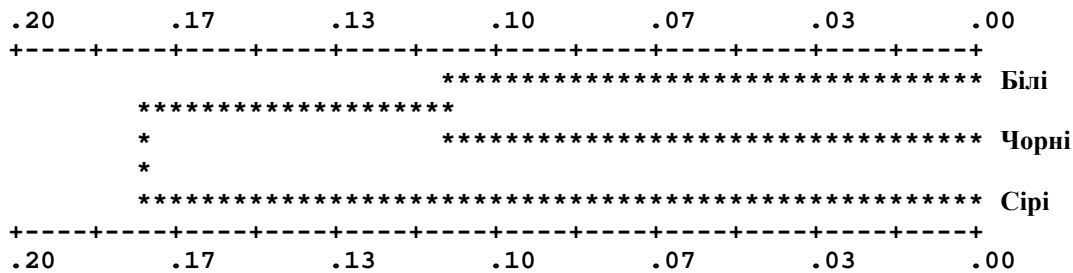


Рис. Дендрограма генетичних взаємовідношень між групами овець

Таким чином, отримані дані свідчать про значний рівень поліморфізму, а також про те, що подібна частота зустрічності алельних варіантів окремих локусів певною мірою може бути пов'язана з відносною консолідованістю внутрішньопородних груп овець.

Загалом, отримані дані свідчать про досить незалежну мінливість окремих генетико-біохімічних систем у зв'язку з дією різних факторів природного та штучного добору.

### Висновки

Аналіз генетичної структури внутрішньопородних популяцій гірськокарпатських овець, що відтворюються в умовах Карпат, дозволив нам охарактеризувати генофонд за використанням молекулярно-генетичних маркерів, які змінюються в поколіннях залежно від умов відтворення тварин. Встановлено, що в овець з різним кольором вовнового забарвлення за поліморфними генетико-біохімічними системами наявна внутрішньопородна генетична диференціація. Окремі генетико-біохімічні системи, зокрема Tf та PN, можуть служити маркерами специфічних особливостей генетичної структури досліджених груп тварин. Дослідження вітаміну D зв'язуючого білка у крові гірськокарпатських овець було проведено вперше. За локусом рецептора до вітаміну D виявлені два алельних варіанти — Gc A і Gc B, три генотипи — AA, AB, BB. Суттєвої міжгрупової різниці за цим показником не встановлено, хоча алельний варіант Gc B частіше зустрічався у тварин з білою вовною.

**Перспективи подальших досліджень.** Необхідно продовжувати дослідження на більшій кількості тварин, з можливістю вести селекційну роботу під контролем генетичної структури породи і внутрішньопородних груп.

*T. Chokan, P. Stapay, S. Tarasjuk*

### FEATURES OF GENETIC STRUCTURE OF SHEEP'S INTERBREED GROUPS WITH DIFFERENT COLOUR OF WOOL

#### Summary

The specific character of genetic structure interbreed Mountain Carpathian groups of sheep with different color of wool under, the molecular-genetic markers, were studied. The structure of the gene pool, which is characteristic for different groups of sheep breeding, were revealed. It was shown changes of the distribution of allele frequencies of polymorphic genetic and biochemical systems, depending on the color of wool. Some genetic-biochemical systems, including Tf and PN, can be as markers of specific features of genetic structure of animals groups. The first vitamin D binding protein on Mountain Carpathian sheep was studied. For loci with vitamin D receptor identified two allelic variants — GC A and B, three genotypes — AA, AB, BB. Significant intergroup differences is not set although GC B allelic variant have met frequently in animals with white wool.

Т. В. Чокан, П. В. Стапай, С. И. Тарасюк

## ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ВНУТРИПОРОДНЫХ ГРУПП ОВЕЦ С РАЗНЫМ ЦВЕТОМ ШЕРСТИ

### А н н о т а ц и я

Исследовано специфику генетической структуры внутривидовых групп горнокарапатских овец с разным цветом шерстного покрова, которые воспроизводятся на территории украинских Карпат за молекулярно-генетическими маркерами. Выявлено структуру генофонда, которая характерна для групп овец разной селекции. Показаны изменения распределения частот аллелей полиморфных генетико-биохимических систем в зависимости от цвета шерстного покрова. Отдельные генетико-биохимические системы, в частности Tf и PN, могут служить маркерами специфической особенности структуры животных исследованных групп. Исследования витамин D связывающего белка у крови горнокарапатских овец были проведены впервые. За локусом рецептора к витамину D обнаружены два аллельных варианты — Gc A і Gc B, три генотипа — AA, AB, BB. Существенных межгрупповых различий не установлено, хотя аллельный вариант Gc B чаще встречался у животных с белой шерстью.

1. Глазко В. И. Биохимическая генетика овец [Текст] / В. И. Глазко. — Новосибирск : Наука, 1985. — 167 с.
2. Зубець М. В. Методичні аспекти збереження генофонду сільськогосподарських тварин [Текст] / М. В. Зубець, В. П. Буркат, Ю. Ф. Мельник та ін. ; Наук. ред. І. В. Гузев. — К. : Аграрна наука, 2007. — 4 с.
3. Іовенко В. М. Вівчарство України [Текст] / В. М. Іовенко, П. І. Польська, О. Г. Антоненко та ін. ; За ред. В. П. Бурката. — К. : Аграрна наука, 2007. — 335 с.
4. Макар І. А. Біологічні та господарсько-корисні ознаки гірськокарпатських овець з вовною природного забарвлення [Текст] / І. А. Макар, В. В. Гуменюк, М. В. Мартишук та ін. — Львів : Афіша, 2004. — С. 12–14.
5. Глазко В. И. Генетика изоферментов животных и растений [Текст] / В. И. Глазко, И. А. Созинов ; Под ред. А. А. Созинова. — Киев : Урожай, 1993. — 528 с.
6. Beckman J. S. Molecular marker in the genetic improvement of farm animals [Text] / J. S. Beckman, M. Soller // Biotechnology. — 1987. — V. 5. — P. 573–576.
7. Harris H. Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics [Text] / H. Harris, D. A. Hopkinson. — Amsterdam : North-Holland Publ. Comp., 1976. — P. 680.
8. Gahne B. Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle [Text] / B. Gahne, R. K. Juneja, J. Grolmus // Anim Blood Group Biochem Genet. — 1977. — 8. — V. 3. — P. 127–137.
9. Swofford D. L. BIOSYS-1: a Fortran program for the comprehensive analysis of electroforetic data in population genetics and systematics [Text] / D. L. Swofford, R. B. Selander // J. Heredity. — 1981. — V. 72. — P. 281–283.
10. White P. The multifunctional. properties and characteristics of vitamin D-binding protein [Trends Endocrinol](#) [Text] / P. [White](#), N. [Cooke](#). — 2000 Oct. — V. 11 (8). — P. 320–327.

**Рецензент:** завідувач лабораторії біологічних основ генетики і селекції тварин, доктор сільськогосподарських наук Є. І. Федорович.