УДК 636.127.1.575:547.96

ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА УКРАЇНСЬКОЇ ПОПУЛЯЦІЇ РИСАКІВ ЗА ПОЛІМОРФНИМИ СИСТЕМАМИ БІЛКІВ КРОВІ

Рецензенти: док-р с.-г. наук Шабля В.П.; канд. с.-г. наук Ткачова І.В.

О. О. Алещенко, В.І. Россоха, Г.М. Тур
Інститут тваринництва НААН

Вивчено особливості та внутрішньопородну диференціацію генетичної структури двох порід, відслідковано зміну гомозиготності за поліморфними системами білків сироватки крові. Найвищі рівні поліморфності як показники генетичного різноманіття отримані в Дібрівському кінному заводі №62 серед орловської рисистої породи: 4,0842 за трансферином ($p<0,01$) та за альбуміном у Запорізькому кінному заводі № 86: 1,9931 ($p<0,05$). У російській рисистій породі рівні поліморфності за трансферином становили 3,5704 ($p<0,01$) в кінному заводі „Шахтар", за альбуміном - у Запорізькому кінному заводі № 86: 2,0000 ($p<0,05$).

Ключові слова: **кінні заводи, рисисті породі, білки, алелі, трансфери, альбумін, гомозиготність, поліморфність, достовірність**

Одним із шляхів підвищення ефективності удосконалення порід є вивчення генетичних детермінант формування високої продуктивності. Використання імуногенетичних тестів дає змогу характеризувати структуру порід, ліній, родин на генному рівні, а також контролювати походження тварин.

Використання маркерних генів для контролю походження увійшло в практику країн із розвиненою індустрією кінного бізнесу, зокрема США, Великобританія, ОАЕ, Ірландія, Франція. Сьогодні найбільш актуальним завданням є застосування маркер-допоміжної селекції в конярстві, включаючи теоретичні й практичні аспекти генетичного моніторингу, а саме підтримання в популяціях генетичного різноманіття, що є необхідною умовою для творчої селекційної роботи. Вирішення цих завдань потребує як узагальнення світового досвіду, так і проведення досліджень алелофонду коней вітчизняних порід.

Важливе значення має контроль за зростання гомозиготності в поголів'ї в цілому, та в кінних заводах зокрема. Для цього можна використовувати оцінку генетичного поліморфізму білків сироватки крові.

У лабораторній практиці використання даних про генетичну різноманітність поліморфних систем крові сприяє об'єктивнішій оцінці питання комплектування племінних заводів типовими для породи тваринами з різними алелями з метою підтримання характерної для кожної породи структури і достатньо високого рівня гетерозиготності.

Застосування систематичного генетичного моніторингу в генофондних популяціях дає змогу вирішити головну проблему – контроль за рівнем генетичного різноманіття, а також використовувати можливості маркер-допоміжної селекції, включаючи оцінку внутрішньопородної диференціації, формування оптимальної генеалогічної структури.

На сьогодні багато лабораторій світу проводять типування тварин за мікросателітними локусами ДНК, проте визначення генотипу за поліморфними системами білків та груп крові в Україні ще досі залишається простим та порівняно дешевим аналізом біологічного матеріалу. Це дає можливість проводити масове типування тварин. Загальною особливістю більшості методик є відносно висока продуктивність, завдяки чому за один день можна протестувати більше 100 зразків крові. Інтерпретація отриманих при цьому даних нескладна, що виключає суб'єктивні помилки, які виникають при класифікації перехідних, нестійких ознак.

Основою застосування імуногенетичних маркерів (груп крові та поліморфних білків) для оцінки генетичної ситуації в популяціях є результати аналізу їхньої генетичної структури. Теоретичним обґрунтуванням правомірності такого методичного підходу є припущення, що за розподілом алелів поліморфних білків і груп крові можна судити про розподіл інших, пов'язаних з ними генів.

Мета роботи полягала у вивченні особливостей та внутрішньопородної диференціації генетичної структури двох порід, простеженні змін гомозиготності за поліморфними системами білків сироватки крові.

Матеріали та методи досліджень. Молекулярно–генетичні дослідження проводили на зразках сироватки крові коней орловської (n=245) та російської (n=174) рисистих порід за допомогою горизонтального електрофорезу в крохмальному гелі за стандартною методикою [2, 5].

Як маркери використовували розподіл алельних частот за локусами, які кодують такі білки крові: трансферин (Tf) та альбумін (Alb).

Результати досліджень. Серед поголів'я обох порід встановлено відносно низьку генну частоту алеля Tf^O. Він трапляється лише серед коней Дібрівського, Запорізького та Лозівського кінних заводів в орловській рисистій породі та серед коней російської рисистої породи Дібрівського і Запорізького кінних заводів та господарств різних форм власності. Рівень достовірності $p<0,01$ саме за цим алелем (табл. 1) свідчить про те, що алель Tf^O не завжди притаманний орловській рисистій породі. Серед дослідженого поголів'я російської рисистої породи (табл.2) алель Tf^O відсутній лише в коней кінного заводу „Шахтар" та серед коней, що належать господарствам різних форм власності (достовірність генної частоти Tf^O дорівнює $p<0,05$) .

Відносно низьку достовірність ($p<0,05$) генної частоти алеля Tf^H виявлено серед коней Запорізького кінного заводу. На нашу думку це можна пояснити наявністю великої кількості предків американської рисистої породи в родоводах коней, що узгоджується з дослідженнями Ніколаєвої Н. В. [3].

1. Генні частоти білків в орловській рисистій породі

Назва суб'єкта з племінної справи в конярстві	n	Частоти алелів						
		Tf					Al	
		D	F	H	O	R	A	B
СООО „Богоявленське”	29	0,0862 ± 0,0369***	0,6207 ± 0,0637***	0,1034 ± 0,04***	0,0000	0,1897 ± 0,0515***	0,4655 ± 0,0655***	0,5345 ± 0,0655***
ПСП „Комишанське”	17	0,1176 ± 0,0553***	0,3824 ± 0,0833***	0,3529 ± 0,082**	0,0000	0,1471 ± 0,0607***	0,7353 ± 0,0757***	0,2647 ± 0,0757***
Дібрівський к.з. № 62	57	0,1842 ± 0,0363***	0,3421 ± 0,0444***	0,1754 ± 0,0356***	0,0526 ± 0,0209***	0,2456 ± 0,0403***	0,6754 ± 0,0438***	0,3246 ± 0,0438***
Запорізький к. з. № 86	34	0,0882 ± 0,0344***	0,6029 ± 0,0593***	0,1618 ± 0,0447***	0,0294 ± 0,0205**	0,1176 ± 0,0391***	0,5294 ± 0,0605***	0,4706 ± 0,0605***
Кінний завод «Шахтар»	21	0,119± 0,05***	0,5± 0,0771***	0,119± 0,05***	0,0000	0,2619 ± 0,0678***	0,619± 0,0749***	0,381± 0,0749***
Лозівський к. з. № 124	32	0,1406 ± 0,0434***	0,45± 0,0622***	0,1719 ± 0,0472***	0,0156 ± 0,0155	0,2188 ± 0,0517***	0,7656 ± 0,0529***	0,2344 ± 0,0529***
ТОВ «Перший Сумський К.інний завод»	22	0,4545 ± 0,0751***	0,1818 ± 0,0581***	0,1136 ± 0,0478***	0,0000	0,25± 0,0653***	0,7727 ± 0,0632***	0,2273 ± 0,0632***
Інші господарства	33	0,1364 ± 0,0422***	0,5303 ± 0,0614***	0,0606 ± 0,0294***	0,0000	0,2727 ± 0,0548***	0,5303 ± 0,0614***	0,4697 ± 0,0614***

Примітка. * *- p<005;* ** *- p<0,01;* *** *- p<0,001 (тут і далі - рівень достовірності за критерієм Ст’юдента).*

Що стосується оцінки генетичного різноманіття груп тварин, найбільш часто використовують основні показники: ступінь гомозиготності та рівень поліморфності, які характеризують число активно діючих алелів.

Рівень фактичної гомозиготності в орловській рисистій породі за окремим алелями коливається від 0,0175 до 0,4706 за альбуміном та від 0,0303 до 0,3823 за трансферином, причому гомозиготні фенотипи Tf FF та Al AA серед всього дослідженого поголів'я рисаків (табл. 3).

2. Генні частоти білків у російській рисистій породі

Назва суб'єкта з племінної справи в конярстві	n	Частоти алелів						
		Tf					Al	
		D	F	H	O	R	A	B
Дібрівський к.з. № 62	74	0,1622± 0,0303***	0,4527± 0,0409***	0,1554± 0,0298***	0,0946± 0,0241***	0,1351± 0,0281***	0,7635± 0,0349***	0,2365± 0,0349***
Запорізький к.з. № 86	30	0,1333± 0,0439***	0,6833± 0,0601***	0,0167± 0,0165*	0,1333± 0,0439***	0,0333± 0,0232**	0,5± 0,0645***	0,5± 0,0645***
Кінний завод «Шахтар»	51	0,2255± 0,0414***	0,3922± 0,0483***	0,1569± 0,036***	0,0000	0,2255± 0,0414***	0,4118± 0,0487***	0,5882± 0,0487***
Інші господарства	19	0,2105± 0,0661***	0,6316± 0,0782***	0,0526± 0,0362***	0,0263± 0,026*	0,0789± 0,0437***	0,5526± 0,0807***	0,4474± 0,0807***

3. Коефіцієнти фактичної гомозиготності, Hi (за окремими локусами) в орловській рисистій породі

Назва суб'єкта з племсправи в конярстві	n	Tf					Al	
		DD	FF	HH	OO	RR	AA	BB
СООО „Богоявленське”	29	-	0,3448***	-	-	-	0,1034***	0,1724***
ПСП „Комишанське”	17	0,0588***	0,1765***	0,1765***	-	-	0,4706***	-
Дібрівський к.з. № 62	57	-	0,0351**	-	-	-	0,3684***	0,0175*
Запорізький к.з. № 86	34	-	0,3823***	0,0294**	-	-	0,0588***	-
Кінний завод «Шахтар»	21	0,0476***	0,1429***	-	-	0,0476***	0,2381***	-
Лозівський к. з. № 124	32	0,0312**	0,125***	-	-	-	0,5312***	-
ТОВ «Перший Сумський кінний завод»	22	0,0909***	0,0454***	-	-	-	0,5909***	0,0454***
Інші господарства	33	-	0,2424***	-	-	0,0303**	0,0606***	-

У російській рисистій породі найбільш поширені гомозиготні фенотипи теж представлені алелями Tf^F та Al^A (табл. 4). Коливання гомозиготності становить від 0,0946 до 0,5789 (Tf^F) та від 0,1053 до 0,527 (Al^A). Причому в обох породах ці коефіцієнти високо достовірні ($p<0,001$).

4. Коефіцієнти фактичної гомозиготності, Hi (за окремими локусами) в російській рисистій породі

Назва суб'єкта з племінної справи в конярстві	n	Tf					Al	
		DD	FF	HH	OO	RR	AA	BB
Дібрівський к.з. № 62	74	-	0,0946***	0,0135	-	-	0,527***	-
Запорізький к.з. № 86	30	-	0,5***	-	-	-	-	-
Кінний завод «Шахтар»	51	0,0588	0,1765***	0,0392**	-	0,0784***	0,1176***	0,2941***
Інші господарства	19	0,1053***	0,5789***	-	-	-	0,1053***	-

За показниками генетичного різноманіття отримані наступні дані: коливання фактичної гомозиготності в орловській рисистій породі за всіма локусами трансферину (табл. 5) дорівнює від 0,0006 (у Дібрівському к.з. № 62) до 0,0121 (у Запорізькому к.з. № 86), проте достовірний ($p<0,05$) коефіцієнт отримано лише серед дослідженого поголів'я ПСП „Комишанське" (за локусами обох типів білків). Коефіцієнти очікуваної гомозиготності серед всього поголів'я орловських рисаків високо достовірні ($p<0,001$), у той час, як показник реалізації гомозиготності недостовірний за обома типами білків лише серед коней Дібрівського к.з. № 62 і серед того ж поголів'я найбільш високий рівень поліморфності 4,0842 за трансферином ($p<0,01$).

Немає достовірних даних рівня поліморфності за альбуміном лише серед коней Лозівського к. з. №124 та ТОВ „Першого Сумського кінного заводу".

У російській рисистій породі спостерігається трохи інша картина: немає достовірних даних фактичної гомозиготності за всіма локусами альбуміну серед всього дослідженого поголів'я (табл. 6).

Проте за локусами трансферину виявлені достовірні коефіцієнти в Запорізькому к.з. № 86 (0,0167; $p<0,05$) та серед господарств різних форм власності (0,036; $p<0,01$). Крім того показник реалізації гомозиготності альбуміну встановлено недостовірний серед всього дослідженого поголів'я. Що стосується рівня поліморфності, то найбільш високополіморфним за трансферином є поголів'я Дібрівського к.з. № 62 та кінного заводу „Шахтар" (3,5386 та 3,5704 відповідно, при $p<0,01$).

5. Показники генетичного різноманіття в орловській рисистій породі

Назва суб'єкта з племінної справи в конярстві	n	Коефіцієнти фактичної гомозиготності, Hi (за всіма локусами)		Коефіцієнти очікуваної гомозиготності, Ca (за всіма локусами)		Показник реалізації гомозиготності, W		Рівень поліморфності, Na	
		Tf	Al	Tf	Al	Tf	Al	Tf	Al
СООО „Богоявленське”	29	0,0119	0,0095	0,4394***	0,5024***	0,0271**	0,0189*	2,2761*	1,9905*
ПСП „Комишанське”	17	0,0242*	0,0277**	0,3062***	0,6107***	0,0791***	0,0453***	3,2655**	1,6374*
Дібрівський к.з. № 62	57	0,0006	0,0068	0,2448***	0,5616***	0,0025	0,0121	4,0842**	1,7808*
Запорізький к. з. № 86	34	0,0121	0,0017	0,4122***	0,5017***	0,0294***	0,0034	2,426*	1,9931*
К.з. «Шахтар»	21	0,0113	0,0113	0,3469***	0,5283***	0,0329**	0,0215*	2,8823**	1,8927*
Лозівський к. з. № 124	32	0,0049	0,0166*	0,30***	0,6411***	0,0161*	0,0259*	3,3032**	1,5598
ТОВ«Перший Сумський кінний завод»	22	0,0062	0,0289**	0,3151***	0,6488***	0,0197*	0,0446***	3,1738**	1,5414
Інші господарства	33	0,0083	0,0018	0,3779***	0,5018***	0,0219*	0,0037	2,6464*	1,9927*

6. Показники генетичного різноманіття в російській рисистій породі

Назва суб'єкта з племінної справи в конярстві	n	Коефіцієнти фактичної гомозиготності, Hi (за всіма локусами)		Коефіцієнти очікуваної гомозиготності, Ca (за всіма локусами)		Показник реалізації гомозиготності, W		Рівень поліморфності, Na	
		Tf	**Al**	**Tf**	**Al**	**Tf**	**Al**	**Tf**	**Al**
Дібрівський к.з. № 62	74	0,0015	0,0071	0,2826***	0,6389***	0,0052	0,0111	3,5386**	1,5652
Запорізький к. з. № 86	30	0,0167*	0,0000	0,5039***	0,5***	0,0331**	0,0000	1,9846*	2,0000*
К.з. «Шахтар»	51	0,0069	0,0081	0,2801***	0,5156***	0,0247*	0,0157	3,5704**	1,9396*
Інші господарства	19	0,036**	0,0055	0,4529***	0,5055***	0,0795***	0,011	2,2079*	1,9781*

Висновки:

1. Рисисті породи відрізняються високим ступенем різноманіття за всіма дослідженими локусами. Локус трансферину контролюється п'ятьма алелями Tf^D, Tf^F, Tf^H, Tf^O, Tf^R з переважним поширенням алелів Tf^D, Tf^F, Tf^R . У локусі альбуміну визначено два алелі Al^A та Al^B. У більшості випадків встановлено перевагу за алелем Al^A.

2. Коефіцієнти фактичної гомозиготності за окремими локусами в популяціях коней усіх господарств отримані по Tf^F та Al^A (лише серед російських рисаків Запорізького кінного заводу не виявлено гомозиготних тварин за локусом альбуміну).

3. Найвищі рівні поліморфності як показники генетичного різноманіття отримані в зразках крові коней Дібрівського кінного заводу №62 серед орловської рисистої породи: 4,0842 за трансферином ($p<0,01$) та за альбуміном у Запорізькому кінному заводі № 86: 1,9931 ($p<0,05$). У російській рисистій породі рівні поліморфності за трансферином були 3,5704 ($p<0,01$) у кінному заводі „Шахтар", за альбуміном також в Запорізькому кінному заводі № 86: 2,0000 ($p<0,05$).

Бібліографічний список

1.Храброва Л. А. Методические рекомендации по ведению генетического мониторинга местных пород лошадей / Храброва Л. А., Зайцев А. М. – Дивово: ВНИИ коневодства, 2005. – 50 с.

2.Дубровская Р. М. Методические рекомендации по использованию иммуногенетических маркеров для оценки изменений структуры популяций (пород) лошадей. / Дубровская Р. М., Стародумов И. М. – Дивово: ВНИИ коневодства, 1995. – 34 с.

3.Николаева Н. В. Влияние американского рысака на формирование генетической структуры и выраженность хозяйственно-полезных признаков у лошадей русской рысистой породы: Автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. с.-х. наук: 06.02.01 – Разведение, селекция, генетика и воспроизводство с.-х. животных. – Дивово: ВНИИ коневодства, 2004. – 18 с.

4. Genome analisys: a laboratory manual: mapping genomes /Green E. – C.Cold Spring Harbor Lab. USA. – № 4. – P. 37-38.

5.Smithies O. Zone electrophoresis in starch gels: group variation in the serum proteins of normal human adults // Biochem.J.-1955.- Vol.61.- P.629-641.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА УКРАИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ РЫСАКОВ ПО ПОЛИМОРФНЫМ СИСТЕМАМИ БЕЛКОВ КРОВИ

Алещенко О.О., Россоха В.И., Тур Г.Н., Институт животноводства НААН

Изучены особенности внутрипородной дифференциации генетической структуры двух пород, прослежены изменения гомозиготности по полиморфным системами белков сыворотки крови.

Наивысшие уровни полиморфности как показатели генетического многообразия получены в Дубровском конном заводе №62 среди орловской рысистой породы: 4,0842 по трансферрину (p<0,01) и по альбумину в Запорожском конном заводе № 86: 1,9931 (p<0,05). В русской рысистой породе уровни полиморфности по трансферрину составили 3,5704 (p<0,01) в конном заводе „Шахтер", по альбумину также в Запорожском конном заводе № 86: 2,0000 (p<0,05).

Ключевые слова: конные заводы, рысистые породы, белки, аллели, трансферрины, альбумин, гомозиготность, полиморфность, достоверность.

GENETIC STRUCTURE OF UKRAINIAN LIGHT HARNESS HORSES ACCORDING TO POLYMORPHOUS BLOOD PROTEIN SYSTEMS

Aleshchenko O., Rossokha V., Tur G., Institute of animal science, NAASU

This article highlights the experimental research results on genetic structure peculiarities of Ukrainian light harness horses. Inter-population-selected horse differentiation was investigated on the two breeds. Homozygosis swap was researched according to polymorphous blood serum protein systems. The top polymorph levels were obtained in Dibrova stud №62 and Zaporozhye stud №86 during Orlov roadsters examination. Significance test was fulfilled. Polymorph levels serve as the indicators of genetic variety. In Dibrova stud №62 transfrrin level forms 4,0842 (p<0,01). In Zaporozhye stud №86 albumin level constitutes 1,9931 (p<0,05). In Russian trotting breed transferring level equals 3,5704 (p<0,001). The test was fulfilled in 'Shakhtar' stud. Albumin level amounts 2,0000 (p<0,05) in the above-mentioned breed, tested in Zaporozhye stud №86.

Key words: studs, roadsters, proteins, alleles, transfer, albumin, homozygosis, polymorphism, significance test.

