

УДК 575.082.13:636.1.001.32

**Н. А. КОВАЛЬЧУК<sup>1</sup>**

**О. І. ВІЩУР<sup>1</sup>**, доктор ветеринарних наук;

**С. І. КРАСЬ<sup>2</sup>**, к. с.-г. наук;

**С. І. ТАРАСЮК<sup>3</sup>**, доктор с.-г. наук, професор, член-кореспондент НААН

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН, м. Львів

<sup>2</sup>Львівський державний університет фізичної культури, м. Львів

<sup>3</sup>Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

## **АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ПОПУЛЯЦІЙ ПОРІД КОНЕЙ ЗА ОКРЕМИМИ ГЕНЕТИКО-БІОХІМІЧНИМИ МАРКЕРАМИ**

*У статті наведені результати аналізу генетичної структури української та чистокровної англійської верхових порід коней за використання генетико-біохімічних маркерів. Рівень середньої гетерозиготності складав у англійської породи (66 %), української верхової (51 %), що обумовлено наявністю гетерозиготних генотипів в обох досліджених популяціях.*

*Ключові слова: коні, українська верхова порода, чистокровна англійська верхова порода, генетико-біохімічні системи, трансферин, естераза, альбумін, генетична диференціація, генотипування.*

На сучасному етапі розвитку генетики сільськогосподарських тварин є доступними методи аналізу генетичних структур популяцій різних порід тварин, з метою виявлення як рівня диференціації їх генетичних структур на субпопуляційному рівні, так і з'ясування механізмів процесів мікроеволюції і філогенезу на видовому рівні, за використання різних типів ДНК-маркерів [1, 2]. Хоча останні і є високополіморфними генетичними маркерами, що дає змогу виявити поліморфізм геному на рівні ДНК, але одночасно при цьому у багатьох випадках зникає можливість генного аналізу, тобто аналізу мінливості біохімічних маркерів конкретного структурного гену. Оскільки вони в свою чергу завдяки наявності інформації про біохімічні функції конкретних білків маркують не тільки гени, а й конкретні ланки загального метаболізму, то це дає змогу визначити взаємозв'язок між мінливістю генів і структурним поліморфізмом кодованими ними білків-ферментів – регуляторів загального метаболізму, та між генетичними і морфо-фізіологічними породними особливостями [3].

Нами досліджені біохімічні маркери структурних генів, що беруть участь у метаболізмі екзогенних субстратів та транспорті речовин в організмі. Саме ці генетико-біохімічні системи в найбільшій мірі задіяні під час процесу доместикації тварин, оскільки забезпечують адаптацію внутрішнього біохімічного середовища організму до мінливих умов зовнішнього середовища [1]. Ферменти обміну глюкози, зокрема циклу Кребса, виявляють значний генетичний консерватизм не залежно від виду організму. У коней різних порід стійким поліморфізмом характеризуються саме локуси трансферину, естерази і альбумінів

[4]. Аналіз алелефонду і специфіку його розподілу між різними популяціями коней за цими локусами є інформативним критерієм оцінки стану генетичної структури та її динаміки. Звичайно, при вирішенні проблем генетичної ідентифікації породи коней і визначення приналежності окремої тварини до тієї чи іншої породи з високою точністю найефективніше використовувати різні типи ДНК-маркерів, але з метою вивчення механізмів біохімічної адаптації популяції коней, зокрема української верхової і англійської порід в процесі селекції, важливим є аналіз не анонімних послідовностей ДНК, а аналіз розподілу частот алелей за поліморфними локусами структурних генів з відомою біохімічною функцією. Це в свою чергу значно розширить і збагатить наші уявлення про механізми адаптації порід на генетичному рівні.

**Мета.** Вивчити генетичну структуру популяцій коней української та чистокровної англійської верхових порід за окремими генетико-біохімічними маркерами.

**Матеріали і методи дослідження.** Дослідження проводились у Львівській дитячо-юнацькій спортивній школі з кінного спорту „Буревісник” на двох групах жеребців чистокровної англійської та української верхових порід віком 6–8 років. Умови догляду, годівлі, утримання та системи тренінгу у досліджуваних коней були ідентичні. Матеріалом для проведення досліджень слугувала кров, яку брали з яремної вени у коней у стані спокою до годівлі.

Досліджували розподіл частот алелей і генотипів за локусами, що кодують білки та ферменти крові коней. Вивчали наступні генетико-біохімічні системи: з групи транспортних білків – трансферин (TF) та альбумін (ALB), з групи ферментів метаболізму екзогенних субстратів – естеразу (EST) (КФ 3.1.1.1.).

Для аналізу поліморфізму локусів білків використовували метод вертикального електрофорезу в 9% поліакриламідному гелі (ПААГ) [9].

Для характеристики рівня генетичної мінливості обчислювали частоту алелей поліморфних локусів, фактичну ( $H_o$ ) та теоретично очікувану ( $H_s$ ) гетерозиготність [11]. Відхилення фактичних частот від теоретично очікуваних відповідно до закону Харді-Вайнберга оцінювали за критерієм Пірсона [8]. Критичне значення  $\chi^2$  брали для 5% рівня значущості похибки [12]. Для оцінки біохімічного поліморфізму використовували комп'ютерну програму «BIOSYS I» [13].

**Результати власних досліджень.** За результатами досліджень електрофоретичного розподілу білків було встановлено поліморфізм за локусами трансферину, естерази і альбумінів. Значення частот розподілу алельних варіантів за поліморфними локусами у досліджуваних груп коней української верхової і англійської порід коней представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

**Розподіл частот алелей поліморфних локусів генетико-біохімічних систем крові в популяціях української та чистокровної англійської верхових порід коней**

Локус	Алелі	Популяції	
		чистокровна англійська	українська
TF	D	0,125	0,375
	F	0,375	0,250
	M	0,375	0,125
	H	0,125	0,250
EST	A	0,750	0,250
	B	0,250	0,750
ALB	A	0,750	0,875
	B	0,250	0,125

За локусом трансферину виявлено 4 алельні варіанти: D, F, M і H у обох досліджуваних груп коней. Найшвидший варіант (алель D) і найповільніший – (алель M) переважали у групі української верхової породи, тоді як домінуючими у групі англійської породи були варіанти F і M.

За локусом естерази було встановлено два алелі Est A і B, але частотний розподіл між ними залежав від досліджуваної групи. Так, найбільшим вміст алелю Est A був у групі чистокровної англійської породи, а найменшим в української верхової породи.

За локусом альбумінів визначено два алелі A і B, тільки тут перший варіант переважав у двох групах.

При оцінці статистичної достовірності відмінностей у частотах алельних варіантів різних локусів досліджуваних популяцій були одержані дані, що свідчать про їхню генетичну неоднорідність (табл. 2). Як ми бачимо за використання критерію F у оцінці диференціації між породами частот алелей, за локусом трансферину статистично достовірною вона була за усіма наявними алелями ( $p < 0,05$ ). Це саме стосується і локусу естерази, тоді як за локусом альбумінів така відмінність була характерною лише для алелю B.

Таблиця 2

**Достовірність різниці у розподілі частот алелей між популяціями української та чистокровної англійської верхових порід коней по локусу трансферину, естерази і альбумінів за критерієм Фішера**

Популяції	Алелі	Українська	
		F	P
Англійська	Трансферин		
	D	6,25	< 0,05
	F	2,30	< 0,05
	M	9,20	< 0,05
	H	4,00	< 0,05
	Естераза		
	A	9,01	<0,05
	B	9,01	<0,05
	Альбумін		
	A	1,36	>0,05
	B	4,10	<0,05

Примітка. F – значення критерію Фішера; P – рівень значущості похибки.

Отже, як бачимо, хоча у обох досліджуваних порід присутні одні й ті ж алелі, частотний розподіл їх має специфічні відмінності. На це могли впливати різні чинники: специфіка проведеної племінної роботи з цими породами коней, екологічні умови та ін. Оскільки, як відомо, різні алелі одного і того ж локусу мають в залежності від умов існування різну пристосувальну цінність.

Аналіз відхилень фактичного розподілу генотипів від співвідношення Харді-Вайнберга у двох популяціях (табл. 3) при використанні критерію Пірсона показав, що наявні статистично достовірні відхилення за локусом трансферину. Тоді, як за локусами естерази і альбумінів таких відхилень не було встановлено. Звичайно, такі результати можуть бути частково обумовлені факторами вибіркості у проведенні досліджень. Також з частотного розподілу алелей не впливає кількісний розподіл генотипів. Як і алелі, так і їх комбінації мають селективний характер, тобто різні генотипи мають різне пристосувальне значення для популяції в тих чи інших умовах існування, а отже переважання того чи іншого генотипу зумовлене факторами добору. По локусу трансферину відхилення від стану рівноваги відбулися на користь гетерозиготних генотипів, що також може вказувати на процеси добору на користь гетерозигот, оскільки як показують роботи багатьох авторів [5, 6] гетерозиготні генотипи мають ряд переваг над гомозиготними генотипами.

Таблиця 3

**Розподіл наявних та очікуваних генотипів локусів транспортних білків та естерази крові в популяціях української та чистокровної англійської верхових порід коней**

Локус	Гено-тип	Породи коней							
		українська				чистокровна англійська			
		кількість генотипів		d. f	$\chi^2$	кількість генотипів		d. f	$\chi^2$
		о	е			о	е		
TF	DD	7	4,218	6	88,56*	0	0,468	6	33,4*
	DF	0	5,625			0	2,800		
	DM	8	1,406			0	2,810		
	DH	0	5,625			7	0,936		
	FF	0	1,875			0	4,219		
	FM	0	1,875			23	8,437		
	FH	15	3,750			0	2,812		
	MM	0	0,936			0	4,219		
	MH	0	1,875			0	2,812		
	HH	0	1,875			0	0,468		
EST	AA	0	1,875	1	0,200	15	16,875	1	0,200
	AB	15	11,250			15	11,250		
	BB	15	16,875			0	1,875		
ALB	AA	22	22,968	1	0,200	15	16,875	1	0,200
	AB	8	6,562			15	11,250		
	BB	0	0,468			0	1,875		

Примітка. *d. f.* – число ступенів вільності;  $\chi^2$  – емпіричне значення критерію Пірсона; \* – фактичне значення критерія Пірсона вище табличного при рівні значущості 5 %.

Фактична гетерозиготність у досліджуваних групах коней є вища порівняно до теоретично очікуваної величини (табл. 4) за усіма локусами. Хоча потрібно сказати, що надлишок гетерозигот за локусом трансферину представлений лише трьома (DM, FM і FH) гетерозиготними генотипами із 6 можливих (табл. 3).

Звичайно, такий стан у значній мірі обумовлений обмеженістю величини досліджуваних вибірок. При збільшенні останніх рівень генотипового різноманіття був би більшим [7].

Середнє фактичне значення гетерозиготності розраховане на особину за трьома локусами (рис. 1) є вищим по відношенню до теоретично очікуваного рівня на 19% у чистокровної англійської і на 8 % в українській верхових порід.

Таблиця 4

#### Значення наявної та очікуваної гетерозиготності на локус на особину

Локус	Породи коней			
	українська		чистокровна англійська	
	Н <sub>о</sub>	Н <sub>с</sub>	Н <sub>о</sub>	Н <sub>с</sub>
TF	0,766	0,708	1,000	0,687
EST	0,500	0,373	0,500	0,366
ALB	0,266	0,216	0,500	0,373

Примітка. Н<sub>о</sub> – фактична гетерозиготність; Н<sub>с</sub> – очікувана гетерозиготність.

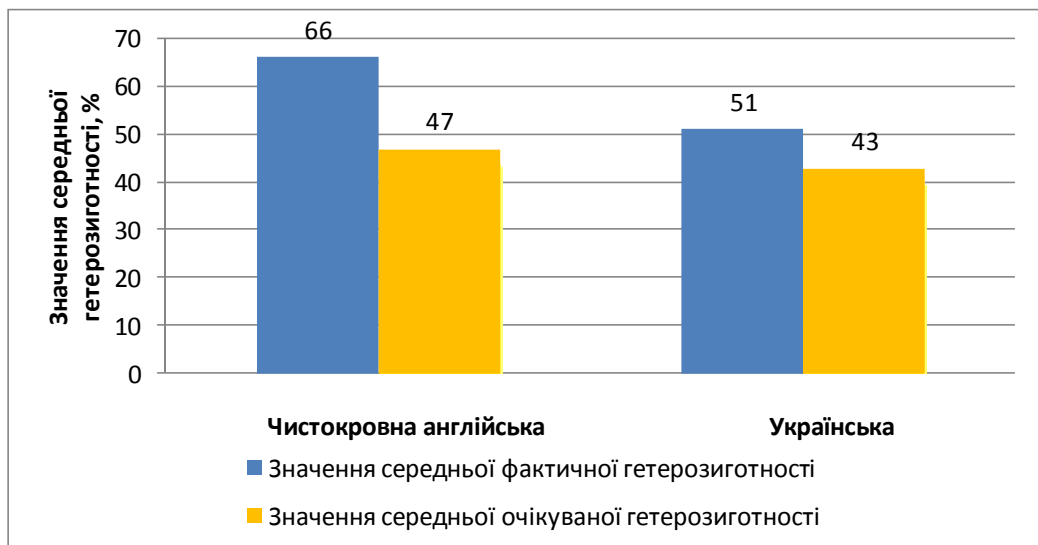


Рис. 1. Рівень середньої гетерозиготності у досліджуваних популяціях коней

Як бачимо з частотного розподілу алелей, зокрема за локусом трансферину, та за якісним генотиповим складом є міжпородна диференціація.

**Висновки.** 1. Проведено аналіз генетичної структури порід коней за використання генетико-біохімічних маркерів. Отримано дані, для оцінки використання різних генетико-біохімічних систем для генетичної диференціації популяцій. Із розглянутих генетико-біохімічних маркерів найбільш інформативними для виявлення міжпородних відмінностей за генетичною структурою виявились локуси трансферину (Tf) та естерази (Est).

2. Отримані статистично достовірні відмінності за дослідженими локусами, які свідчать про вплив факторів добору на формування генетичної структури української і чистокровної англійської верхових порід коней. Аналіз відхилень фактичного розподілу генотипів від співвідношення Харді-Вайнберга у обох вибірках показав, що наявні статистично достовірні відхилення за локусом трансферину.

3. Рівень середньої гетерозиготності складав у англійської породи (66 %), української верхової (51 %). Виявлені відмінності за рівнем середньої гетерозиготності роблять можливим здійснення контролю за рівнем мінливості у генетичній структурі досліджуваних популяцій.

**Перспективи подальшого розвитку.** Цікавим було б проведення в подальшому досліджень по вивченню розподілу частот алелей і генотипів в межах породи у коней різного напрямку використання, що дало б можливість з'ясувати чи є відмінності між ними. Також лишається актуальним дослідження кореляційних взаємозв'язків між рівнем гетерозиготності (при збільшенні кількості досліджуваних локусів) кобил і їх репродуктивними властивостями, а також між останніми і гетерозиготністю по конкретному локусу.

### Список використаної літератури

1. Харченко П. Н. ДНК-технологии в развитии агробиологии/ П. Н. Харченко, В. И. Глазко. – М.: Воскресенье, 2006. – 473 с.
2. Спиридонов В. Г. Визначення достовірності походження коней української верхової породи та мікросателітний аналіз ДНК [ / В. Г. Спиридонов, А. В. Шельов, С. Д. Мельничук та ін. ] // Біологія тварин. – 2009. – Т. 11, № 1-2. – С. 265–269.
3. Глазко В. И. Генетика изоферментов сельскохозяйственных животных/ Глазко В. И. – М.: ВИНТИ, 1988. – 212 с.
4. Храброва Л. А. Теоретические и практические аспекты генетического мониторинга в коневодстве: автореф. дисс. ... д-ра с.-х.наук / Л. А. Храброва–Дивово, 2011. — 38 с.
5. Артамонова В. С. Неконтролируемые генетические процессы в искусственно поддерживаемых популяциях: доказательство ведущей роли отбора в эволюции / В. С. Артамонова, А. А. Махров // Генетика. – 2006. – Т.42, № 3. – С. 310–324.
6. Алтухов Ю. П. Популяционные системы и их структурные компоненты. Генетическая стабильность и изменчивость / Ю. П. Алтухов, Ю. Г. Рычков // Журн. общ. биол. – 1970. – Т. 31, № 5. – С. 507–526.
7. Хедрик Ф. Генетика популяций / Хедрик Ф. – М.: Техносфера, 2003. – 592 с.
8. Животовский Л. А. Популяционная биометрия / Л. А. Животовский.– М.: Наука, 1991. – 264 с
9. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: электрофорез и центрифугирование / Л. А. Остерман. – М.: Наука, 1981. – 288 с.
10. Harrys H. Handbook of enzyme elektrophoresis in human genetics/ H. Harrys, D. A. Hopkinson. – Amsterdam: North-Holland Publ. Comp., 1976. – 680 p.

11. *Ли Ч.* Введение в популяционную генетику / Ли Ч. – М.: Мир, 1978.– 555 с.
12. *Плохинский Н. А.* Биометрия / Плохинский Н. А. – М.: Изд. Моск. ун-та, 1969. – 368с.
13. *Swofford D. L.* BIOSYS-1: a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematic/ D. L. Swofford, R. B. Selander // J. Heredity. – 1981. – Vol. 72. – P. 281–283.

**АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ ПОРОД ЛОШАДЕЙ ОТДЕЛЬНЫМИ ГЕНЕТИКО-БИОХИМИЧЕСКИМИ МАРКЕРАМИ/ Н. А. Ковальчук, О. И. Вищур, С. И. Крась, С. И. Тарасюк**

*В статье приведены результаты анализу генетической структуры украинской и чистокровной английской верховых пород лошадей при использовании генетико-биохимических маркеров. Уровень средней гетерозиготности составлял по английской породе (66 %), украинской верховой (51 %), что обусловлено наличием гетерозиготных генотипов в обеих исследованных популяциях.*

*Ключевые слова: лошади, украинская верховая порода, чистокровная английская верховая порода, генетико-биохимические системы, трансферрин, эстераза, альбумин, генетическая дифференциация, генотипирование.*

**ANALYSIS OF GENETIC STRUCTURE OF HORSES BREED POPULATION WITH USING OF SOME GENETIC-BIOCHEMICAL MARKERS / N. A. Kovalchuk, O. I. Vischur, S. I. Kras, S. I. Tarasyuk<sup>3</sup>**

*The analysis of genetic structure of Ukrainian and English riding breed horses with using genetic and biochemical markers was presented in the paper. The average heterozygosity for the English breed of horses was 66 %, while for Ukrainian breed of horse was 51 %, indicating the presence of heterozygous genotypes in both populations.*

*Key words: horses, Ukrainian riding breed, English riding breed, genetic-biochemical systems, transferrin, esterase, albumin, genetic differentiation, genotyping.*

**Рецензент – кандидат сільськогосподарських наук, Г. О. Соколова.**

Рукопис надійшов 18. 07. 2013р.