

## СПАДКОВА МІНЛИВІСТЬ ВИДУ *GALLUS GALLUS* ТА МОЖЛИВІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ГЕНЕТИЧНИХ МАРКЕРІВ У СЕЛЕКЦІЇ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ

Херсонський державний університет, м. Херсон, Україна

e-mail: elenalanovenko@mail.ru

**Ключові слова:** *геном, ДНК-маркери, поліморфізм, групи крові, добір*

Біохімічна природа домашніх тварин, їхня спадковість та мінливість - один з найприхованіших і найскладніших резервів підвищення продуктивності. Для розкриття цього резерву необхідна розробка нових теорій і більш досконалих методів генетичного аналізу, що ґрунтуються на використанні в селекції різних біохімічних маркерів.

Відомо, що процес формування спадкового поліморфізму в популяціях знаходиться під впливом таких факторів, як селективний тиск добору, дрейф генів, мутаційний процес, міграція, методи розведення. У практиці розведення свійських тварин найсуттєвішого значення набувають добір і генетико-автоматичні процеси. В умовах інбридингу при різкому зниженні загальної життєздатності особин і погіршенні ряду продуктивних якостей слід очікувати збільшення питомої ваги селективних процесів серед факторів, які впливають на генетичну структуру популяції. При розведенні відносно невеликих за чисельністю популяцій, особливо у випадку використання родинних паруваль, важливе значення для визначення генетичної мінливості надається генетико-автоматичним процесам. Зручною моделлю для вивчення цих питань може служити внутріпопуляційна мінливість частоти генів, що обумовлюють такі якісні ознаки, як групи крові, ізоферментні системи. Поки що невідомо, чи підлягають ці ознаки прямій дії добору в процесі розведення тварин, але вони можуть залучатися в цей процес при наявності зчеплення з іншими життєво важливими і господарсько-цінними ознаками і виступати в якості сигнальних. Мінливість таких маркерів залежить від наявності алельних станів невеликої кількості генів, про що повідомлялося ще на початку 80-х років минулого століття (Животовський, 1984; Созінов, 1985). Крім того, генетичні маркери можуть використовуватися для посилення ефективності добору за кількісними ознаками [1].

Відомо, що від складу крові, від роботи кровоносної системи залежить не тільки нормальна життєдіяльність організму, але й продуктивність та репродуктивна здатність. У літературі існують відомості про існування зв'язку гематологічних показників із запліднюючою здатністю сперміїв у півнів (Кушнір Х.Ф., Кондратюк

М.Д., 1946). Проводяться цікаві дослідження антигенних властивостей сперми. Встановлено, що в деяких випадках в організмі самиць утворюються антитіла, які згубно впливають на сперматозоїди деяких самців.

При вивченні успадкування груп крові встановлено, що нащадки мають лише ті фактори крові, які існують хоча б у одного з батьків. Якщо у нащадка присутній хоча б один фактор крові, якого немає у батька та / або матері, то це означає, що походження даної тварини невірне встановлено за записами

На сьогодні селекційна цінність алелів груп крові та ізоферментних локусів, які характеризуються мінливістю та високим поліморфізмом, недостатньо вивчена. Хоча представник класу Aves – домашня курка - стала першим об'єктом генетики тварин (Bateson and Sounders, 1902) та її геном нині повністю секвенований, генетичні та фізичні карти хромосом птахів, які є своєрідним путівником по геному, залишаються порівняно малонасиченими внаслідок недостатньої кількості поліморфних ДНК-маркерів.

Метою даної роботи є аналіз ортології хромосом птахів і ссавців та вивчення можливості використання частоти генів груп крові, поліморфних систем білків домашньої птиці в якості генетичних маркерів підвищеної продуктивності і життєздатності.

Серед хребетних тварин клас Aves відрізняється найбільшою консервативністю величини геномів. Результати геномного аналізу показали, що геноми курки і людини містять приблизно 20-25 тисяч генів. Але гаплоїдний геном птахів у середньому складається з  $1,2 \times 10^9$  пар нуклеотидів, тобто є в 2.75 разів меншим, ніж у ссавців (2,9 мільярди). Це пояснюється тим, що в геномі курки набагато менше інтронних ділянок. Зокрема, у людини повтори і некодуючі ділянки ДНК складають половину кода, у курки - 10%. Загальних генів у людей та курей - 60% (у щурів таких, наприклад, 88%). Нині відомо більше ста ортологічних районів курки та людини (Schmid et al., 2000; Burt, 2002). Високий еволюційний консерватизм вмісту ДНК у геномах птахів пояснюють монофілетичним походженням класу Aves [2].

Головною відмінністю каріотипів птахів є численність та гетерогенність хромосом, що входять до їх складу. Оскільки у класі Aves хромосоми відрізняються за розмірами, їх умовно ділять на 2 групи: групу макрохромосом, що складається з шести – восьми пар відносно великих за розмірами (3-8 мкм) хромосом, та групу мікрохромосом - дрібних хромосом (0.3 - 3 мкм), які важко ідентифікуються.

Проведений Родіоновим (2001) аналіз опублікованих каріотипів більше 800 сучасних видів птахів засвідчив, що практично усі вони мають стандартний диплоїдний набір хромосом ( $2n = 76-82$  знайдено у

65% видів) і типову морфологію макрохромосом. Цікаво, що відмінності за кількістю хромосом у птахів не завжди пов'язані з таксономічним положенням. Так, у соколоподібних (Falconiformes) Європи каріотип включає 20-23 пари хромосом, а в американських видів - 50-53 пари. При цьому кількість та морфологія макрохромосом залишаються незмінними, варіює лише кількість та структура мікрохромосом [2].

Високий консерватизм геномних послідовностей ДНК та структури каріотипу в межах класу Aves виявлений методом zoo-FISH (гетерологічної гібридизації ДНК-ДНК in situ геномних послідовностей з використанням повнохромосомних ДНК-зондів) (Shetty et al., 1999; Shibusawa et al., 2004a; Shibusawa et al., 2004b; Derjusheva et al., 2004). Вміст унікальних послідовностей у проаналізованих цим методом видів птахів (80 - 84 %) порівняно із ссавцями (65 -70%) є досить високим. При цьому вміст сателітної ДНК у геномі домашньої курки не перевищує 3 % (у ссавців - 35% генома). Сателітна ДНК локалізується переважно у мікрохромосомах та в W- хромосомі домашньої курки.

Більшість господарсько- цінних ознак домашніх тварин мають складний полігенний тип успадкування та контролюються багатьма генами, розміщеними в локусах QTL (quantitative trait loci). Дані про нуклеотидні послідовності з районів QTL можуть використовуватися в практичному тваринництві для селекції за допомогою молекулярних маркерів (marker assisted selection, MAS).

Експерименти з позиційного клонування двох районів хромосоми 4 домашньої курки, що містили QTL товщини шкаралупи на 53 тижні життя (ST53) та маси білка в яйці на 33 тижні (AW33) показали, що вказані ознаки розрізняються у двох ліній курей (польська зеленонога та род-айленд) на 3,3% та 7,5%, відповідно. Авторами показане зчеплення ознаки AW33 з мікросателітним маркером MCW170 (генетична відстань 1cM) і практично повне зчеплення QTL ST53 з мікросателітним маркером MCW114 [3].

В єдиного модельного об'єкта з числа птахів - домашньої курки *Gallus domesticus* - диплоїдний набір складається з 78 хромосом, 16 з яких макро-, а 62 - мікрохромосоми. Унаслідок присутності множинного алелізму за локусами деяких генів мікрохромосом можливо контролювати селективні процеси, що відбуваються в популяціях (лініях, гуртах, породах), використовуючи їх в якості детермінантів маркерних ознак.

Отже, своєрідність організації каріотипів птахів - структурна компартменталізація геному (наявність мікро- і макрохромосом) - дозволила висунути припущення про існування функціональної спеціалізації хромосом. Виявлена висока генетична активність мікрохромосом, щільна насиченість їх кодуючими послідовностями

ДНК, в першу чергу, генами «домашнього господарства» та онкогенами [3].

### **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Дослідження груп крові проведено на матеріалі інбредної популяції курей породи російська біла, яка замкнено розводилася протягом 18 поколінь шляхом парування переважно сибсів і напівсибсів. Використовувалося групове утримання курей з півнями (статеве співвідношення 10:1). Спеціального добору за будь-якими ознаками не проводили, окрім того, що для відтворення стада залишали півнів від кращих за яйценосністю курей. Коефіцієнт інбридингу в популяції на момент дослідження складав більше 70% за Райтом. Для ідентифікації курей за групами крові використовували імунні сироватки, одержані шляхом ізоімунізації з наступним адсорбційним аналізом на птиці цієї ж популяції. Кожна сироватка – це реагент, що виявляє певний антиген В- або Е-систем, який передається у спадщину як монофакторіальна ознака. Протягом трьох років проводили спостереження за життєздатністю і продуктивністю птиці цієї лінії у залежності від присутності тих чи інших алелів В- та Е-локусів груп крові у генотипі птиці. При цьому не допускали близькородинних парувань. Будь-якого добору і підбору за господарсько-цінними ознаками не проводили.

### **РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**

Успадкування факторів крові кожного виду тварин контролюється декількома генами. Більшість факторів крові успадковуються за типом алеломорфних ознак: присутність у хромосомах різних алелів обумовлює успадкування тих чи інших антигенів. При цьому фактори крові можуть успадковуватися як поодиночі, так і цілими групами або комплексами, які включають від 2 до 8 антигенів кожна. Такі успадковані як одне ціле фактори називаються групами крові. Отже, група крові може складатися з одного або декількох факторів. Кожний ген (точніше, група алелів, що знаходиться в певному локусі певної хромосоми) керує успадкуванням однієї системи крові, яка включає від одного до декількох десятків факторів крові, котрі, як вже було сказано, можуть утворювати комплекси або групи. У курей встановлено 14 систем крові.

Присутність численних груп крові створює можливості для виникнення величезної кількості комбінацій алелів, внаслідок чого тварини з однаковими групами крові практично не зустрічаються, за виключенням однойцевих двоєн, які мають однаковий тип крові (тобто сукупність усіх її груп).

Під час проведення імунологічних досліджень в інбредній лінії курей російської білої породи з коефіцієнтом інбридингу більше 70% за Райтом виявлено розщеплення за чотирма алелями в В-локусі груп крові з різними частотами відповідних генів ( $V^1$ - 0,1080,  $V^2$ - 0,5070,  $V^3$ -

0,3084,  $V^4$  - 0,0766) та трьома алелями в E-локусі ( $E^1$  - 0,2244,  $E^2$  - 0,0645,  $E^3$  - 0,711). Вивчення продуктивних якостей птиці (заплідненість, виводимість курчат, життєздатність, яйценосність) у зв'язку з існуючим в лінії поліморфізмом за B- та E- локусами груп крові показало, що продуктивність птиці, маркірованої різними алелями вказаних систем груп крові, є неоднаковою. Виявлені достовірні зв'язки між окремими алелями груп крові та деякими ознаками продуктивності [1].

Частоти алелів груп крові у популяції відповідали характеру виявлених зв'язків та, очевидно, ними обумовлювалися.

Найсильніше впливали на частоту генів крові у популяції такі ознаки, як життєздатність та яйценосність птиці. В умовах інбридингу в першу чергу яскраво проявився несприятливий вплив гомозиготності за алелями груп крові на життєздатність птиці (смертність курчат за період вирощування серед гетерозиготних генотипів коливалася від 5 до 20,2%, а серед гомозигот – від 22 до 75,4%. Дані про яйценосність курей за три роки у залежності від присутності у курей алелів B- та E-систем груп крові показують, що більш низьку яйценосність мали кури з алелями  $E^1$  та особливо з  $E^2$  (на 9,8 яєць менше за рік життя;  $P < 0,001$ )(таблиця).

**Таблиця.** Вплив різних генів B- та E-локусів груп крові на яйценосність інбредної лінії курей (у середньому за рік життя)

Алель (+ присутність у генотипі, - відсутність)	Кількість курей	Середня кількість яєць
$V^1$ +	255	48,64
$V^1$ -	391	46,92
Різниця		+ 1,72
$V^2$ +	416	50,98
$V^2$ -	248	43,89
Різниця		+ 7,10***
$V^3$ +	280	47,84
$V^3$ -	370	49,03
Різниця		- 1,19
$V^4$ +	170	45,72
$V^4$ -	265	49,62
Різниця		- 3,9
$E^1$ +	118	46,0
$E^1$ -	250	48,56
Різниця		- 2,56
$E^2$ +	80	41,60
$E^2$ -	261	51,47
Різниця		- 9,87 ***
$E^3$ +	240	48,75
$E^3$ -	25	37,22
Різниця		+ 11,53 **

\*\*  $P < 0,01$  ; \*\*\*  $P < 0,001$  (за Ст'юдентом).

Несприятливий вплив присутності у генотипі алелі  $E^2$  простежувався у відношенні ряду ознак протягом усіх етапів онтогенезу. Саме цей алель серед інших алелів  $E$ -системи характеризується найнижчою частотою у лінії (0,0545). Найвища частота (0,497)  $B^2$ -алеля  $B$ -локусу груп крові корелює з кращою яйценосністю птиці – носія цього алеля. Ми припускаємо, що позитивний зв'язок між алелями  $B^2$  та  $E^3$ , з одного боку, та яйценосністю курей – з іншого, супроводжувався кумулятивною дією цих алелів.

Результати проведеного дослідження показали, що курки різних маркірованих групами крові генотипів мали неоднакову селективну цінність. При цьому частота алелів, які маркірують генотипи з більш високою адаптивною цінністю, була вищою за частоту алелів, що маркірують генотипи з більш низькою адаптивною цінністю. Можна припустити, що генний профіль за групами крові у вивченій інбредній популяції курей формувався під спрямовуючим впливом добору на основі зв'язків цих якісних ознак з рядом тих кількісних ознак, які мають біологічне та економічне значення.

Окрім груп крові перспективним є вивчення поліморфізму білків крові, яець, що виявляється за допомогою електрофорезу на крохмальному гелі. Білків крові багато, структура кожного кодується одним або декількома генами. Деякі білки крові (наприклад, гемоглобін) можна розділити електрофоретичним шляхом на декілька типів, причем ці типи, подібно групам крові, контролюються окремими генами. Виявлення нових молекулярних маркерів (marker-assisted selection) у результаті картування нуклеотидних послідовностей на хромосомах є перспективним для використання в роботах з позиційного клонування господарсько - цінних ознак в селекції. Вивчаючи успадкування груп крові та інших поліморфних ознак, можна визначити наявність суттєвих кореляцій з успадкуванням продуктивних властивостей тварин. Оскільки групи крові можна визначити зразу ж після народження тварин, то відкривається можливість за ними оцінювати майбутню їх продуктивність. Перспективним є також визначення походження тварини за факторами крові, що значно підвищує ефективність племінної роботи.

## **ВИСНОВКИ**

Генетичними маркерами служать ті якісні ознаки, за якими спостерігається фенотиповий поліморфізм. Явище спадкового поліморфізму обумовлено множинним алелізмом відповідного гена. Генетично обумовлені поліморфні системи можуть бути виявлені серологічно (групи крові) або біохімічними методами (типи білків крові, яець та ін.). Групи крові та системи поліморфних білків специфічні, індивідуальні для кожної тварини і не змінюються протягом життя, не залежать від умов середовища. Кореляція груп

крові, різних типів білків крові та яєць з біологічними особливостями та рівнем продуктивності тварин дозволяє використовувати їх в якості біологічних маркерів при доборі та прогнозуванні продуктивності тварин у ранньому віці. Сталість типів поліморфних білків в онтогенезі, успадкування за кодомінантним принципом дозволяють використовувати їх також в якості маркерів окремих тварин для генетичної характеристики популяцій, аналізу походження порід, ліній, родин, встановлення напрямків селективної дії добору при проведенні селекційно-генетичних досліджень. При наявності зчеплення ізоферментних маркерів з генними системами, що детермінують розвиток морфологічних ознак, можливе проведення ефективного добору на ранніх етапах селекції. Ізоферментні маркери доцільно використовувати у комбінації з ДНК-маркерами.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гинтовт В.Е., Новик И.Е. Изучение частоты генов групп крови у кур в связи с их жизнеспособностью и продуктивностью // Генетика.- 1974.-Т.Х,№10.-С.47-54.
2. Сазанова А.Л. Эволюционный консерватизм и композиционная гетерогенность хромосом птиц.- Дис .канд.биол.н. – С.-П., 2005.- 168 с.
3. Стекольников В.А. Позиционное клонирование локусов количественных признаков домашней курицы.- Дис. канд. биол.н.- С.-П., 2006.- 127 с.

Лановенко О.Г.

#### НАСЛЕДСТВЕННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИДА GALLUS GALLUS И ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В СЕЛЕКЦИИ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ

*Ключевые слова:* геном, ДНК-маркеры, полиморфизм, группы крови, отбор

Рассматривается возможность использования внутривидовой частоты групп крови В- и Е-систем домашней птицы для прогнозирования продуктивности и жизнеспособности отдельных популяций и выбора метода селекции. Показана необходимость использовать в качестве генетических маркеров продуктивности те качественные признаки, по которым наблюдается фенотипический полиморфизм. При наличии сцепления изоферментных маркеров с генными системами, контролирующими развитие морфологических признаков, возможен эффективный отбор на ранних этапах селекции. Изоферментные маркеры целесообразно использовать в комбинации с ДНК-маркерами.

Lanovenko O.G.

#### HEREDITARY VARIABILITY OF THE KIND GALLUS GALLUS AND USE POSSIBILITY GENETIC MARKERS IN SELECTION ON EFFICIENCY

*Keys words:* genom, DNA - markers, polymorphism, group of blood, selection.

In this work is examining the use of intrapopulation frequencies of blood groups В- and Е- poultry systems for predicting the productivity and viability of individual populations and to choose the method of selection. The necessity to use as genetic markers productivity of the qualitative features of which observed phenotypic polymorphism. In the presence of coupling of isofermental markers with the gene systems supervising development of morphological signs, effective selection at early stages of selection is possible. Isofermental markers are expedient for using in combination with DNA-markers.