

УДК 591.151.3:636.082

Т. А. Луполова

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В СЕЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Для определения структуры генофондов и возможности использования таких иммуногенетических маркеров, как β -Lg, Ov, k-Cn и др., были изучены породы, линии, гибриды разных видов сельскохозяйственных животных и птиц по таким показателям, как частота аллелей и генотипов, генетическое сходство популяций, генетическое равновесие, структура полиморфных систем белков крови и молока у КРС, овец, а также полиморфные системы крови и овобелков яиц кур.

Введение

С целью повышения эффективности и рентабельности сельскохозяйственного производства в настоящее время разрабатываются принципиально новые приемы искусственного отбора в селекционном процессе для создания высокопродуктивных пород сельскохозяйственных животных и птиц [1]. Для успешного решения этих задач необходимо изучение генофонда исходных пород, их генетической изменчивости и дифференциации. Количественную оценку продуктивных параметров можно получить с использованием биохимических маркеров, основанных на полиморфизме белков, которые способствуют углубленному выяснению закономерностей динамики генетической структуры сельскохозяйственных популяций [2]. В настоящее время возможности использования биохимических полиморфных маркеров в селекции продемонстрированы на значительном количестве сельскохозяйственных популяций [1–8].

В связи с этим целью работы явилось изучение генетической структуры породных и внутривидовых линий животных и птиц, а также возможность использования в селекции животноводства некоторых полиморфных систем белков в качестве иммуногенетических маркеров.

Для достижения данной цели были решены следующие задачи:

- подобран оптимальный комплекс молекулярно-генетических маркеров;
- разработаны методы горизонтального электрофореза для выбранных генов;
- установлены частоты встречаемости аллельных вариантов и выявлены корреляционные связи с продуктивными качествами животных;
- определена степень генетического сходства по данным «классических» биохимических маркеров;
- дана оценка эффективности использования генетических маркеров в селекции.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в Республике Молдова над породами КРС голштинская, красная степная, джерсейская, красная эстонская, черно-пестрая и симментальская. Параллельно проводились исследования и над помесью F_1 – F_4 в группах джерсейская х симментальская, красная эстонская х черно-пестрая, красная степная х черно-пестрая, красная степная х голштинская. У овец исследованию подверглись особи каракульской породы. У птиц были проанализированы полиморфные системы крови и белков яиц пород маран, орпингтон, плимутрок и кроссов ALBO-70, ROSO SL-93, ROSO SL 2000. Определение наследственно обусловленного типа белка (α_1 S₁Cn, β Cn, kCn, β Lg, Ov, Cp, Hb, Tf) проводилось методом горизонтального электрофореза [3], [4]. Применение данного метода позволяет разделить белки молока на полиморфные системы: α S₁Cn, β -Cn, k-Cn, β -Lg.

Расшифровка фореграмм проводилась согласно схеме, представленной на рисунке.

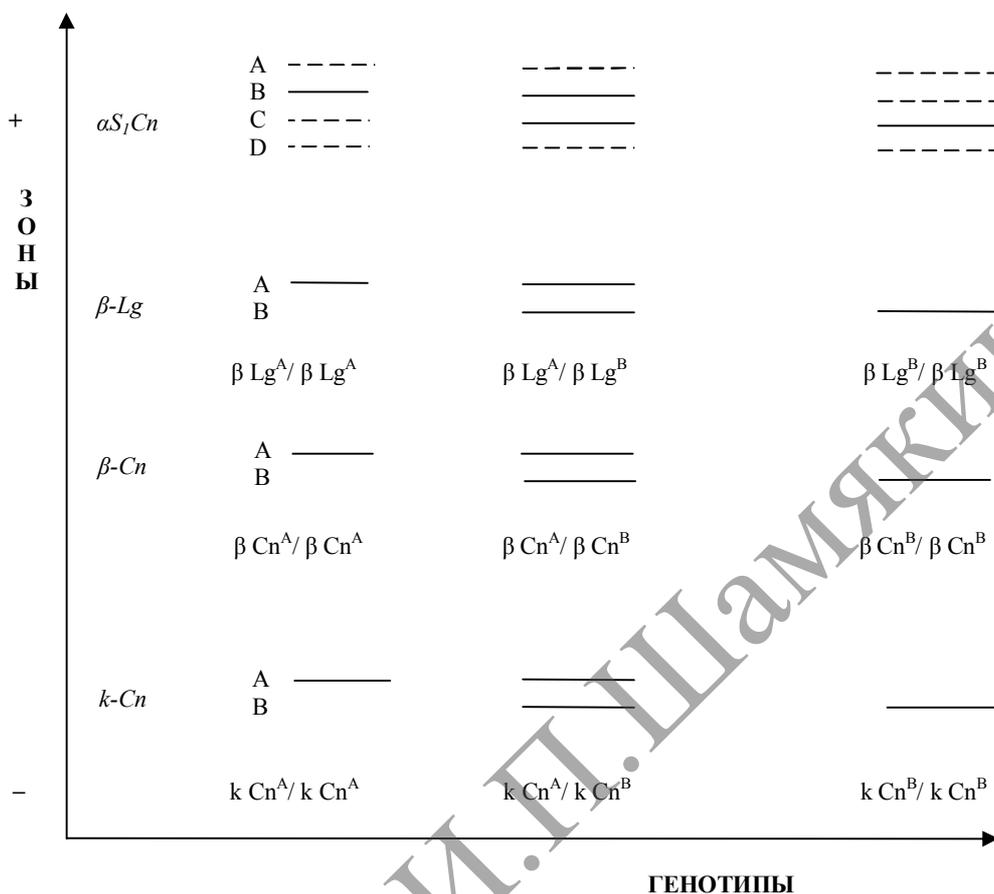


Схема – Расшифровка фореграмм белков молока

Частота аллелей была определена по формуле (Гофман – Кадошников, 1975):

$$p(A) = (2AA + AB)/2n \tag{1}$$

$$q(B) = (2BB + AB)/2n, \tag{2}$$

где $p(A)$ и $q(B)$ – частоты аллелей А и В;
 AA и BB – число особей с гомозиготным генотипом;
 AB – число особей с гетерозиготным генотипом;
 n – число особей в группах.

Вычисление генетического равновесия в изучаемых популяциях по каждому локусу проводилось согласно тесту χ^2 с использованием формулы:

$$\chi^2 = (\Phi - T)^2/T, \tag{3}$$

где Φ – фактическое количество особей в популяции с определенным генотипом;
 T – теоретически ожидаемое количество особей.

Для определения генетической дистанции между кроссами использовали формулу Маяла-Лингстрема.

Результаты исследования и их обсуждение

Среди множества генов, контролирующих молочную продуктивность и качество молока, можно выделить группу мажорных генов, вносящих наибольший вклад в формирование и функционирование данного количественного признака. К таким генам относится ген каппа-казеина. Качество молока крупного и мелкого скота, возможность его использования в сыроварении в значительной степени зависят от аллельных вариантов каппа-казеина. В наших опытах на популяциях КРС был установлен В-аллельный вариант каппа-казеина, который ассоциируется с более высоким содержанием белка в молоке и выходом сыра, а также с лучшими коагуляционными свойствами молока. Это объясняется различным уровнем гликолизирования и меньшим диаметром мицелл в молоке животных, имеющих ВВ-генотип. Сыр, сделанный из молока животных, имеющих генотип ВВ, содержит больше белка и меньше жира (24,7% и 33,18% соответственно), чем при генотипе АА (24,22 и 33,71%).

В исследованных популяциях ценные аллели каппа-казеина привносят особи голштинской и симментальской породы, которые в связи с этим представляют наибольшую ценность для селекции.

В ходе исследований были изучены особенности белковых систем в связи с ассоциацией с лейкозом и маститом, которые наносят большой экономический ущерб животноводству, особенно племенному генофонду высокопродуктивного скота.

Диагностика инфицированности крупного рогатого скота вирусом бычьего лейкоза (BLV – Bovine Leukemia Virus) до сих пор выполняется по оценке наличия у животных антител к антигенам BLV с помощью РИД-диагностики. Метод характеризуется невысокой точностью. Известно, что РИД-положительный анализ подтверждается только при патологоанатомическом анализе в 1–8% случаев.

Доказано, что чувствительность к лейкозу у скота определяют постальбумины типа ВВ и трансферрины типа АД. Из этого следует, что при селекционной работе необходимо постоянно вести контроль накопления данных аллелей в популяции, а быки-производители должны типироваться по этим генам.

Для оценки генофонда сельскохозяйственной птицы сегодня предложено использовать только 5–6 систем, в которых обнаруживается более сильный, генетически обусловленный полиморфизм. К ним относятся овоальбумины, глобулины G₃ и G₂, кональбумины, лизоцим и др.

В наших исследованиях на популяциях кур пород маран, орпингтон, локус O_v проявился плейотропный эффект, оказавший влияние на оплодотворяемость и выводимость яиц. Гомозиготные куры АА имели повышенную яйценоскость, характеризовались меньшей живой массой и массой яиц, а выводимость цыплят была ниже, чем у гетерозигот на 3–10%. Куры-носители аллеля O_v^A превосходили кур с аллелью O_v^B по живой массе и массе яиц. У гомозиготных кур O_v^{BB} цыплята были более жизнеспособные по сравнению с гетерозиготными.

При исследовании белковых систем молока овец была определена взаимосвязь локуса βLg с продуктивными качествами овец. Нами показано, что генотип β-Lg АА взаимосвязан с высокой молочной продуктивностью, особи с генотипом АВ имеют наименьшее содержание сухого вещества в молоке (18,69%), а овцы с генотипом АА продуцируют на 0,24% больше сухого вещества по сравнению с гетерозиготными особями. Что касается овец с гомозиготным генотипом ВВ, то они содержат в молоке на 0,79% больше сухого вещества, чем гетерозиготные животные.

Сравнивая процентное соотношение жира, мы установили, что наиболее жирное молоко (8,55%) можно получить от овец с генотипом ВВ, что на 0,13% больше, чем содержание жира в молоке овец генотипа АА и на 0,61% больше по сравнению с гетерозиготным генотипом АВ.

Содержание протеина, наибольший процент (4,82%) которого был обнаружен в молоке особей с генотипом АВ, на 0,16% оказался больше, чем в молоке овец с генотипом АА, и на 0,45% превысил гетерозиготный генотип.

При анализе процентного содержания казеина в молоке особей с генотипами АА, АВ, и ВВ, обнаружено, что наименьшее содержание казеина (3,45%) получено от особей с генотипом ВВ, что на 0,25% меньше содержания казеина в молоке гомозиготных особей АА (3,7%) и на 0,28% ниже гетерозиготного генотипа АВ (3,73%).

В результате популяционно-генетических исследований разных популяций нами были установлены частоты встречаемости аллелей и генотипов.

Полученные результаты в птицеводстве свидетельствуют о том, что у всех изученных кроссов в трех локусах овопротеинов было обнаружено присутствие 2-х аллелей: А и В. Частоты встречаемости аллелей различные: в некоторых локусах более высокие частоты имел аллель А – локус I (кроссы Roso SL 2000 и Roso 93) и локусы II и III – кросс Albo. В других случаях чаще встречался аллель В. Сравнивая частоты аллелей в исследуемых локусах с результатами исследований других авторов, можно сделать вывод, что существенных отклонений в частотах аллелей в наших исследованиях не было обнаружено.

Кроссы Albo-70, Roso SL 93 и Roso SL 2000 в системах гемоглобина, трансферрина и церулоплазмينا характеризовались присутствием 2-х аллелей: А и В. Частоты встречаемости аллелей различные: в системе **гемоглобина** более высокие частоты имел аллель Hb^A – 0,9000–0,9875, в системе **трансферрина** чаще встречался аллель Tf^{AB} . Преимущественность аллеля Sr^A была доказана и в локусе **церулоплазминов**.

Популяция помесей КРС F_1 характеризовалась промежуточным значением частот генов сравнительно с чистопородными популяциями. В помесных группах F_1 – F_4 частоты генов приближались к частотам генов улучшающей породы, которая внесла больший генетический компонент в формирование группы.

Результаты иммуногенетических исследований белковых систем молока овец каракульской породы показали полиморфизм **альфа-казеинов, каппа-казеинов, бета-казеинов и бета-лактоглобулинов**. В локусе **альфа-S₁-казеин** было установлено присутствие трех аллелей ($\alpha_1S_1Cn^A$, $\alpha_1S_1Cn^B$, $\alpha_1S_1Cn^C$) с более высокой частотой для типа $\alpha_1S_1Cn^B$ – 0,9355. В локусе **kCn** было обнаружено 2 аллеля с наибольшей частотой для kCn^A (0,7580) и наименьшей (0,2419) для kCn^B . В наших исследованиях было установлено в локусе **β Cn** присутствие двух аллелей: βCn^A и βCn^B с частотами 0,5968 и 0,4032 соответственно. Локус, который контролирует синтез **β Lg**, у овец, локализован во второй хромосоме, и считается, что он придает вкус молоку [5]. Нами было обнаружено 2 аллеля – βLg^A и βLg^B – с более высокой частотой для типа βLg^A – 0,6774.

Таким образом, сложившаяся структура популяции по изученным белкам представляет собой целостную динамическую систему, имеющую преимущественно гомозиготные генотипы AA (для α_1S_1Cn – BB) и находящуюся в состоянии генетического равновесия.

Иммуногенетические показатели также могут быть использованы в качестве маркеров для изучения генетической структуры с целью определения общего происхождения пород. Например, генетическое сходство коров пород красная эстонская и красная степная составило $r = 0,9976$, а между джерсейской и черно-пестрой $r = 0,8907$. Что же касается кроссов Roso SL 2000 и Roso 93, которые были получены путем скрещивания линий кур породы родайланд, то они очень похожи и величина r составляет 0,9900, что доказывает их общее происхождение. Между популяциями кур кросса ROSO SL-2000 и ALBO-70 коэффициент генетического сходства составил 0,9325.

Выводы

Молекулярно-генетическое изучение промышленных популяций имеет важное теоретическое и практическое значение, поскольку результаты его могут служить основой для рассмотрения общих принципов влияния полиморфизма белков на продуктивность животных, а также для определения возможностей использования полиморфных систем различных белков в качестве маркеров в селекции. Это помогает выявить генотипы, имеющие ценность для племенной работы, что дает возможность прогнозирования уровня продуктивности животных без дополнительных затрат.

В результате исследования были получены новые данные о структуре полиморфизма молочных, яичных белков и белков крови, определена их взаимосвязь с хозяйственно-полезными признаками животных. Например, полученные данные по локусам лактопротеина (в комплексе с другими существующими методами оценки и отбора овец) могут использоваться в качестве биохимического теста (маркера) состояния генофонда породы и его функциональной значимости в конкретных экологических условиях разведения.

На основании проведенных исследований по аллельному полиморфизму вышеуказанных генов селекционерам можно рекомендовать следующие маркеры:

1. Для повышения продуктивности локальных пород скота использовать в селекции голштинскую породу, т. к. она является наиболее обильномолочной и выступает носителем ценных хозяйственных аллелей каппа-казеина.

2. Для производства белковой продукции с пониженным содержанием жира считать к-Сп генотипа ВВ экономически важным селекционным критерием для молочных пород крупного рогатого скота.

3. Для постоянного контроля накопления аллелей, определяющих лейкоз и мастит, использовать маркер-зависимые белки постальбумины и трансферрины, а всех быков-производителей типировать по этим генам.

4. Для оценки генофонда сельскохозяйственной птицы использовать в качестве маркеров белки овальбумины. Для стабилизации линии по количественным признакам продуктивности преимущество отдавать гомозиготным генотипам АА, для производства следующего поколения и повышения жизнеспособности отбирать кур с гомозиготным генотипом ОvВВ.

5. Для повышения продуктивности и жирномолочности овец каракульской породы предлагаем использовать в качестве генетического маркера locus β -Lg. Установлено, что генотип АА влияет на молочную продуктивность, а при отборе на повышение процента жира в молоке предпочтение отдавать особям с генотипом β -Lg ВВ.

6. В период селекционной работы при совершенствовании и выведении кроссов и пород целесообразно следить за сохранением оптимального генетического разнообразия с использованием биохимических молекулярно-генетических маркеров.

Аллельный полиморфизм белков в качестве маркеров основных селекционируемых признаков продуктивности животных необходим для определения результативности селекционной работы и коррекции направления селекции в процессе формообразования.

Литература

1. Мацевский, Я. Генетика и методы разведения животных : учеб. пособие / Я. Мацевский, Ю. Земба. – М. : Высш. шк., 1988. – С. 231–232.
2. Жебровский, Л. С. Использование полиморфных белковых систем в селекции : учеб. пособие / Л. С. Жебровский, В. Е. Митюшко. – Л., 1982. – С. 79–111.
3. Smithies, O. Zone electrophoresis in starch gels / O. Smithies // Biochem. J. – 1955. – Vol. 61. – P. 629.
4. Жебровский, Л. С. Изучение состава крови, молока и кормов : учеб. пособие / Л. С. Жебровский. – Л., 1974. – С. 113–118.
5. Martin, P. Polymorphisme de lactoprotéines caprines / P. Martin // J. Le Lait. – 1993. – Vol. 73, № 5/6. – P. 511–532.
6. Кушнер, Х. Генетика белкового полиморфизма у животных и птиц : учеб. пособие / Х. Кушнер, Л. Зубарева, В. Гинтовт. – М. : Колос, 1970. – С. 15.
7. Моисеева, И. Г. Изучение генов, контролирующих качественные признаки у птицы / И. Г. Моисеева // Сельское хозяйство за рубежом. – 1975. – № 7. – С. 9.
8. Sulimova, G. E. Polymorphism of kappa-casein gene in populations of Bovinae subfamily / G. E. Sulimova, Yu. N. Badagiev, I. G. Udina // Rus. J. Genetics. – 1996. – Vol. 32, № 11. – P. 1371–1377.

Summary

This work represents the results of the genofund structure and the possibility of immunogenetic markers using, such as β -Lg, O_v, κ -Cn and etc. in selection. For this reason breed, lines, hybrids of various kinds of sheep, cows and poultry were studied on the basis of such exponents as frequency of alleles and genotypes, the genetic similarity of the population, the genetic balance, the structure of polymorphic system of blood albumen and milk of cows, sheep and also polymorphic blood systems and albumen of hen's eggs.

Поступила в редакцию 30.12.08.