

Генетичні дослідження у собаківництві

Анотація. Розглянуто сучасний стан генетичних досліджень у собаківництві. Показано практичні завдання, які вирішує генетична оцінка собак.

Ключові слова: собаківництво, хромосомні та молекулярно-генетичні дослідження, ДНК-маркери,

Abstract. The current position in the dog-breeding is researched. The practical problems solved by genetic evaluation are displayed.

Key words: dog-breeding, chromosomal and molecular genetic studies, DNA markers



В. ДЗІЦЮК, докт. с.-г.наук
Інститут розведення та генетики тварин НААНУ
С. КРУГЛИК, науковий співробітник
Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК

За оцінками кінологів нині у світі налічують до 500 порід собак. Розведенням займаються у всіх країнах; переважно собаківництво ведеться кінологічними спілками і клубами. Законодавчою організацією в кінології є Міжнародна кінологічна федерація (FCI - Federation Cynologique Internationale), створена з метою розвитку і захисту чистопородного собаківництва. Під її керівництвом проводять міжнародні виставки і змагання собак. Більшість європейських країн і США є членами FCI.

У кінологічних спілках, клубах і розплідниках України успішно вирішуються теоретичні і практичні питання розведення, утримання, годівлі, ветеринарного захисту тварин тощо. Однак

вивченню генетичних основ і механізмів, на яких ґрунтується розведення племінних собак, чистопородність і достовірність їх походження, причини і механізми появи аномалій і генетичних хвороб приділяється мало уваги. В літературі питання цілісності каріотипу і будови хромосом собак відображені лише в окремих дослідженнях [2, 3, 12, 22,]. Недостатньо досліджена хромосомна мінливість собак як джерело появи генетичних хвороб і аномалій.

Вивченню ДНК собаки покладено початок у 2003 році а Інституті Броуда в Кембріджі (США) проведенням секвенування геному собаки, тобто прочитанням нуклеотидної послідовності. У 2004 році опубліковано результат повного сиквенсу геному (приблизно 2,5 млрд. пар нуклеотидів) самки боксера по кличці Таша (CanFam1.0) [13].

У нашій країні молекулярно-генетичні дослідження собак лише розпочались.

Більшість дослідників виводять всю різноманітність сучасних порід від вовка, спільного вовкоподібного предка і рідше шакала [7]. Однак є й інші

гіпотези, які потребують вивчення. Матеріалом для аналізу еволюційних подій є розмах генетичної мінливості всередині порід і популяцій та між ними і розуміння, яка саме мінливість сприяє виникненню нових видів і порід тварин. Нині мало відомо аргументованих фактів щодо механізмів породоутворення у собаківництві, проте доступно є можливість оцінити розмах генетичної мінливості всередині порід та між породами на хромосомному і молекулярному рівнях.

Які ж практичні завдання нині може вирішити і вирішує генетична оцінка собак?

Експертиза походження племінних тварин.

У собаківництві особливо актуальними є питання чистопородності і контролю достовірності походження собак. Як інструмент контролю генофонду чистопородних племінних собак у інших країнах використовують генетичні методи, здатні кардинально змінити племінну роботу у собаківництві в цілому.

Вирішення цього завдання неможливо без єдиної світової системи розведення та єдиної уніфікованої бази даних для генетичної оцінки собак. За однією з вимог FCI (Міжнародна кінологічна федерація, стаття 18 Міжнародних правил розведення, прийнята у новій редакції 2012 року) є проведення ДНК-тестування собак як способу контролю генофонду чистопородних племінних тварин відповідно до стандартів і методик Міжнародного Товариства Вивчення Генетики Тварин (International Society of Animal Genetics – ISAG).

Генетичний контроль походження тварин, їх паспортизацію широко застосовують у племінній роботі з собаками в більшості країн і практично стали обов'язковим елементом їх обліку. Контроль достовірності походження засвідчує достовірність родоводів племінних собак, що забезпечує ефективність селекційної роботи.

Генетичною основою контролю походження тварин вважають спадковий поліморфізм, зумовлений наявністю алельних варіантів генів, розміщених на певних ділянках гомологічних хромосом, які використовують як маркери. Згідно із законами генетики потомок не може мати гени, які відсутні у його батьків (адже половина хромосом передається від батька, половина – від матері). Виявлення у потомка генів, яких немає у його батьків, свідчить про невідповідність запису про походження.

Надійна і точна генетична експертиза – за мікросателітними локусами ДНК. Мікросателіти мають велику гетерозиготність, наявність великої кількості алелів, стабільне ауто-

сомне кодомінантне успадкування за законами Менделя і як маркери мають високу точність діагностування.

ISAG запропоновані панелі локусів мікросателітів для основних видів сільськогосподарських, свійських й домашікованих тварин, у які включені найінформативніші локуси, що необхідно використовувати при контролі вірогідності походження.

Для собак рекомендовано систему генотипування собак на основі поліморфізму довжин десяти, яку нині і використовують для контролю походження. [10].

Експертиза генетичних аномалій собак.

Генетичні аномалії у собак виникають внаслідок порушення структурної цілісності хромосом, їх кількості або зміни структури чи точковою мутацією – зміною (заміною) одного нуклеотиду в послідовності ДНК.

Кількісні чи структурні аберації хромосом призводять до змін у функціях клітин та можуть спричинити патологію. Для оцінки і вибракування із селекційного процесу тварин, що мають генетичні аномалії представляє інтерес аналіз хромосомного набору собаки. Диплоїдний набір хромосом в соматичних клітинах собаки в нормі складається із 78 хромосом. Всі аутосоми мають акроцентричну будову, які зменшуються за розміром від найбільшої першої пари гомологічних хромосом до найменшої – тридцять восьмої [2]. Цитогенетичними дослідженнями виявлені числові варіювання хромосом в каріотипі, морфологічні аберації та асоціації окремих хромосом. Аномалії у вигляді поломок чи розривів плечей хромосом, а також через обмін ділянками між гомологічними хромосомами можуть призводити до спадкових змін внаслідок перебудов у молекулярній структурі ДНК, що у свою чергу призводить до нового стану гена, до його нової алельної форми. Наявні в каріотипі собаки і описані транслокації за Робертсонівським типом, тобто утворені внаслідок об'єднання двох акроцентричних хромосом в області центромер. Як вказують Візнер і Віллер [1] у собак з Робертсонівською транслокацією пов'язані такі аномалії як хондродистрофія, розщеплення верхньої губи і пороки серця.

Мутаційні зміни в каріотипі супроводжуються зміною властивостей соматичних клітин чи гамет, в результаті чого порушується їх спадковість, що супроводжується появою нових особливостей в клітині чи організмі. Так, якщо мутація відбувається в соматичних клітинах, то це може призвести до появи пухлини цієї тканини. Мутації в статевих клітинах батьків призводять до змін і появи нових властивостей у їх потомства. Мутаційні зміни,



зазвичай, є причиною аномалій, вад, хвороб і загибелі потомства як на ранніх етапах онтогенезу, так і в більш пізні періоди. Однак слід мати на увазі, що мутації в той же час є джерелом мінливості і творчий селекціонер може використати їх для розвитку бажаних ознак і в подальшому для створення нової породи. За певних умов окремі хромосомні аберації виявляються «корисними» сприяють підвищенню пристосованості до цих нових умов і згодом закріплюються доборою у наступних поколіннях. По суті, всі породоспецифічні особливості у різних собак (коротконогість багатьох тер'єрів, жорстка чи дуже довга шерсть, мопсоподібна будова лицевої частини черепа тощо) – це генні чи хромосомні мутації, закріплені у виведених породах доборою. Саме тварини, у яких з'явилися мутації – бажані для селекціонера – стали родоначальниками кожної з порід і саме ці мутації відрізняли їх від «дикого» типу, тобто від нормального фенотипу, властивого їх диким предкам.

Відхилення числа хромосом у каріотипі за статевими хромосомами порушує процеси сперматогенезу і ембріогенезу собак. Так, при зміні нормального числа статевих хромосом замість норми 76,XX і 76,XY утворюються набори 76,XXX, 76, X0, 76,XXY, 76, XYY, 76,XXXYY тощо. Кобелі з набором хромосом 76,XXY мають недорозвинені сім'яники і відповідно стерильність. При наявності однієї зайвої аутосоми кобелі мають грубий масивний скелет, перерозвинену мускулатуру і також безплідні. У собак зустрічається також синдром Клайнфельтера, за якого тварини мають ознаки чоловічої статі, однак мають недорозвинені сім'яники і внаслідок цього стерильні. Кобелі з каріотипом 76, XYY характеризуються підвищеним рівнем агресивної поведінки та нестабільності психічних реакцій.

Самки з набором хромосом 76,XXX стерильні або мають порушення статевого циклу. У разі їх парування з нормальними кобелями народжують

інтерсексів з каріотипом із співвідношенням статевих хромосом до аутосом як 2X:3A. Як правило, анеуплоїдія за статевими хромосомами призводить до порушення статевої функції собак. У сук з каріотипом 76, X0 спостерігається інфантилізм та недорозвинутість яєчників.

Часто спадкова хвороба чи аномалія спричинюється точковою мутацією-зміною (заміною) одного нуклеотиду в послідовності ДНК. При рецесивному типі успадкування виявити таку тварину за фенотипом неможливо. І така мутація не лише зберігається в популяції, а й поширюється, спричиняючи шкоду потомкам. Для своєчасного виявлення і обмеження поширення таких аномалій необхідним є проведення генетичної експертизи аномалій.

Проблема моніторингу генетичних аномалій і хвороб у собак досить актуальна, особливо у службових порід, які виконують важливі функції для народного господарства країни. Успіх роботи кінологів великою мірою визначається станом генетичного здоров'я їх собак.

У базі даних Online Mendelian Inheritance in Animals (OMIA), яку підтримують дослідники університету м. Сідней, Австралія, описано понад 600 генетичних аномалій собак [12]. В Росії (Санкт-Петербург) досліджено і описано 186 аномалій і хвороб собак, що мають спадкову основу [5].

Аналіз генетичного різноманіття. Собака *Canis familiaris* як вид має унікальний набір генів – генофонд. Генетичний ресурс виду включає внутривидове і внутріпородне різноманіття і його збереження, що має практичне значення. Першочерговим питанням у збереженні генетичного різноманіття у породах собак є моніторинг їх племінних ресурсів для оцінки яких, як і у інших видах і породах сільськогосподарських тварин, застосовують генетичні методи.

Судячи з літературних джерел, нині у дослідженнях поліморфізму ДНК собак, як і інших біо-

логічних об'єктів, використовують різні типи ДНК-маркерів.

Зокрема, RAPD DNA-маркери – випадково ампліфіковані фрагменти ДНК. У собаківництві перше повідомлення про застосування RAPD у аналізі генетичного різноманіття собак опубліковано у 1994 році [17].

Технології RAPD використовують для визначення генетичних відстаней між різними видами родини Canidae [20], для диференціації порід, генетичного аналізу популяцій собак [19], як генетичні маркери при генетичному вивченні хвороб собак [15].

За допомогою RAPD-маркерів проведена оцінка діагностичної цінності цих маркерів в родинному аналізі на прикладі кількох родоходів вітчизняних порід борзих, визначений рівень генетичної різноманітності російських борзих порівняно з європейськими борзими і не борзими породами собак Семеновою С.К. та ін. [6]. Виявлено, що за індексами внутрігрупової подібності група «неборзих» собак виявилась менш однорідною, ніж група борзих.

AFLP маркери – поліморфізм довжини ампліфікованих фрагментів (Amplified sequence length polymorphisms AFLP) базується на поєднанні двох молекулярно-генетичних методів [23], проте має низку переваг. Для його використання не потрібно знати нуклеотидну послідовність праймерів. Метод AFLP дозволяє досліджувати велику кількість локусів та дає змогу одержати більшу кількість поліморфних ДНК-маркерів, ніж будь-який інший на основі ПЛР. Технологія AFLP успішно використовується для дослідження геному тварин, зокрема, і собак AFLP-PCR технологія є технікою генетичного фінгерпринтингу, яка поєднує обидва класичних: гібридизацію і полімеразну ланцюгову реакцію. Порівнюючи послідовність одиначної копії, гени, скопійовані з геному за допомогою генетичного фінгерпринтингу є більш інформативними. Нещодавно були винайдені різні системи маркерів, які є репрезентативними для цілого геному.

STR маркери (Short Tandem Repeat) – мікросателітні маркери – дисперговані тандемні повторювані послідовності, комплементарні до кінцевої ділянки мікросателітних повторів і несуть на одному з кінців послідовність з дво—чотирьох довільних нуклеотидів. Поліморфізм STR дуже високий і його визначає різна копійність мономерних одиниць у кластері, що обумовлює наявність множинних алейних варіантів [11].

І, хоча до використання гіперваріабельних мікросателітних ділянок ДНК для цієї мети іноді ставляться скептично, все ж вони залишаються найкращим інструментом і універсальною системою

генетичних маркерів як для встановлення достовірності походження тварин, так і для дослідження генетичної структури популяцій.

ISSR-маркери – праймери комплементарні до кінцевої ділянки мікросателітних повторів (4–12 одиниць повтору) і несуть на одному з кінців послідовність з двох-чотирьох довільних нуклеотидів («якір»). Такі праймери допомагають ідентифікувати велике число фрагментів ДНК, які розміщені між двома близько розташованими мікросателітними послідовностями, які представлені на електрофореграмі дискретними смугами (ISSR-фінгерпринтинг). Отримані на електрофореграмі ISSR-патерни є породоспецифічними.

В генетичних дослідженнях собак використовуються ISSR-маркери для вивчення породної генетичної різноманітності [14]

Оцінка генетичної різноманітності собак здатна істотно доповнити і покращити програми їх розведення. До того ж актуальною є проблема інбридингу в собаківництві. Відомо, що негативним наслідком інбридингу є інбредна депресія, коли з підвищенням гомозиготності відбувається концентрація небажаних алелів, що нерідко призводить до зниження здатності до відтворення, посилення сприйняття захворювань і смертності.

В кінології відомо багато прикладів, коли інбридинг не призводив до небажаних наслідків. Наприклад, у випадку з дисплазією суглобів інбридинг з предками, які не мають її і дають здорових потомків, може призвести до зникнення симптомів захворювання завдяки підвищенню концентрації генів, які відповідають за правильне формування суглобів. Тому в зв'язку з неоднозначністю оцінок впливу тісного інбридингу на гетерозиготність значний інтерес представляє вивчення рівня генетичної мінливості серед інбредних особин за допомогою високо поліморфних мікросателітних ДНК-маркерів. Проведені дослідження [25] засвідчили, що рівень інбридингу, який часто використовують у селекційних програмах, характеризує лише ймовірність переходу частини геному в гомозиготний стан. Тому цей показник часто не відповідає фактичній гомозиготності тварин, яка може бути визначена за використання мікросателітів.

Загальноприйнятою є думка, що порушення випадкового схрещування призводять до відхилення в частотах генотипів від очікуваної рівноваги Гарді-Вайнберга і в результаті інбридингу частоти генотипів повинні змінюватись у бік переважання гомозигот. Однак, за результатами досліджень Шинкаренко Л.Н. та ін. [8] в групі інбредних собак, яку вони дослідили, виявлений високий рівень гетерозиготності, який значно перевищує очікувану. Можливою причиною цього може бути існування механізму відбору на стадії



гамет з утворенням гомозиготних генотипів. Все це вказує на необхідність проведення генетичних досліджень у собак.

Поряд із мікросателітними маркерами в дослідженнях генетичного різноманіття порід собак використовується поліморфізм мітохондріальної ДНК (мтДНК) [18, 9] і одноступінчасті поліморфізми (SPN) [16].

Мітохондріальна ДНК стала широко використовуватись у еволюційних дослідженнях завдяки швидкій заміні нуклеотидів, перекомбінації, суворому материнському успадкуванню, збереженню розміру, генного вмісту і порядку генів. Особливо часткові порівняння мітохондріальної ДНК використовувалися для дослідження філогенетичних відношень серед близько споріднених таксонів і популяцій тварин одного виду, зокрема відносно походження і еволюції собак і вовків.

Таким чином, генетичні дослідження дають можливість кінологу-селекціонеру розширити і поглибити його уяву про особливості племінного матеріалу, з яким він проводить роботу. У процесі селекції, наукових досліджень, експериментальної та пошукової роботи створюються або виявляються бажані генотипи, які є вихідним матеріалом для удосконалення існуючих порід собак і виведення нових. Актуальним є питання впровадження генетичної експертизи собак за поліморфними системами ДНК в українській кінології, як це зроблено у більшості країн світу.

Методичні засади і експериментальне забезпечення молекулярно-генетичної оцінки собак вже проводиться в Українській лабораторії якості продукції АПК та в Інституті розведення та генетики тварин НААН України.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Визнер Э., Виллер З.** Ветеринарная патогенетика // М.: Колос, 1979. — 424 с.
2. **Графодатский А.С., Раджабли С.И.** Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих: атлас / А. С. — Новосибирск : Наука. Сиб.отд-ние, 1988. — 128 с.
3. **Графодатский А.С., Раджабли С.И.** Сравнительная цитогенетика трех видов собачьих (*Carnivora, Canidae*). Сообщение I. Структурные перестройки в эволюции кариотипа // Генетика. — 1981. — Том XVII. № 8. — С. 1500-1503.
4. **Кузнецова Л.А.** Гетерогенность признаков у собак при анализе исследования аномалий зубной системы, ее значение в селекционной практике Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. СПб Пушкин, 2002, 22 с.
5. **Мукий Ю.В.** Генетический анализ и мониторинг наследственных аномалий в популяциях собак. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. СПб Пушкин, 1998, 22 с.
6. **Семенова С.К., Илларионова Н.А., Васильев В.А., Шубкина А.В., Рысаков А.П.** Генетический анализ и оценка генетического разнообразия восточноевропейских пород борзых собак (*Canis familiaris*) по данным RAPD-маркирования генома. Генетика. 2002. Т.38. № 6. С. 842-852
7. **Соколов В.Е., Шубкина А.В., Букарева Е.П.** Собаки Мира. М.: Астрель, 2001. 608 с.
8. **Шинкаренко Л.Н., Гулякова О.Г., Малиенко В.А., Мельничук С.Д., Спиридонов В.Г.** Анализ генетической изменчивости у собак с высоким уровнем инбридинга (порода американский питбуль терьер) с использованием микросателлитных маркеров. Цитология и генетика. 2010. № 4. С. 16-22.
9. **Adams J.R., Leonard J.A. Waits L.P.** Widespread occurrence of domestic dog mitochondrial DNA haplotype in southeaster U.S. coyotes // Molecular Ecology. — 2008 — V. 12. — 541-546.
10. American Kennel Club, 2011. consulted on internet at March 8th 2012: http://www.akc.org/news/index/cfm.article_id=4592