

УДК 636.1.082:575
© 2013

О.В. Мельник

*Національний
університет біоресурсів
і природокористування
України*

** Науковий керівник —
доктор сільсько-
господарських наук
В.В. Дзіцюк*

ОЦІНКА ГОМОЗИГОТНОСТІ КОНЕЙ ЗАЛЕЖНО ВІД РІВНЯ ІНБРИДИНГУ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ ДНК*

*Проведено оцінку ступеня гомозиготності
12 мікросателітних локусів коней чистокровної
верхової породи залежно від рівня інбридингу.
Навіть за незначного підвищення рівня
інбридингу жеребність і плодючість значно
знижуються, що погіршує ефективність селекції.
Виявлено ефективність використання
мікросателітів ДНК для визначення точнішого
ступеня інбридингу.*

Ключові слова: гомозиготність, інбридинг, локуси, гени, походження, селекція.

Підтримка генетичного різноманіття має велике значення в еволюції та вдосконаленні видів тварин. Основними складниками, які характеризують генетичне різноманіття, є гетерозиготність та інбридинг. Останній широко застосовують у тваринництві з метою закріплення в потомків бажаних рис батьків і консолідації поголів'я. Використання тісного інбридингу та низький рівень гетерозиготності часто призводять до інбредної депресії [3]. Ймовірно, причиною цього може бути збільшення частки ембріонів, гомозиготних за летальними рецесивними генами. Виявлено негативний вплив інбридингу на відтворні здатності [6, 8] та життєздатність коней [5]. Установлено, що навіть за незначного підвищення рівня інбридингу спостерігається значне зниження жеребності та плодючості, що негативно впливає на ефективність селекції [2]. Так, зростання інбридингу в кобил на 1% призводило до збільшення кількості абортів на 1,27% [6, 7].

Оскільки контроль інбридингу є неодмінною умовою успішної селекційної роботи, то виникає потреба у визначенні його величини. Незважаючи на ряд методів [1, 2], тваринники здебільшого користуються формулою Райта. З огляду на те, що рівень інбридингу характеризує ступінь гомозиготності тварини, найнадійнішим методом його визначення є використання генетичних маркерів. Особливої популярності набули поліморфні послідовності ДНК, розподілені по всьому геному — мікросателіти. До того ж, завдяки кодомінантному характеру успадкування, їх використання дає змогу провести підтвердження достовірності походження тварини, оскільки племінні записи з різних причин можуть містити неправдиві дані.

Мета роботи — оцінка гомозиготності коней з різним ступенем інбридингу за мікросателітними локусами ДНК.

Матеріали і методи досліджень. Матеріалом для досліджень були коні чистокровної верхової породи (39 гол.) з відомим родоводом не менше ніж у 5-х поколіннях. До того ж згідно з вимогами Міжнародного товариства з генетики тварин (ISAG) та Міжнародного комітету з племінних книг (ISBC) для коней цієї породи проведення генетичного аналізу за мікросателітами є обов'язковим. Генотипування тварин проводили на базі науково-дослідного відділу молекулярно-діагностичних досліджень Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК. Геномну ДНК виділяли з цільної крові, використовуючи набори «ДНК-сорб-В» («АмпліСенс», Росія) згідно з інструкцією виробника. Генетичний аналіз проводили за 12-ма мікросателітними локусами (AHT04, AHT05, ASB17, ASB23, CA425, HMS03, HMS06, HMS07, HTG04, HTG06, HTG07, VHL20), які входять до переліку панелі маркерів, визначеної ISAG для генотипування коней. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили за стандартних умов. Продукти ампліфікації денатурували формамідом (Sigma, США) та розділяли способом електрофорезу на автоматичному генетичному аналізаторі ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Розміри алелів визначали, використовуючи програмне забезпечення «Gene Mapper 3.7» (Applied Biosystem, США) та розмірний стандарт Genescan-LIZ 500 (Applied Biosystems, США).

Ступінь інбридингу Райта визначали, використовуючи дані родоводів коней у 5-ти поколіннях. На основі отриманих даних генетично-

го аналізу способом прямого підрахунку кількості гомозиготних генотипів для кожної тварини визначали ступінь гомозиготності мікросателітних локусів, який відрізнявся на один локус (1 гомозиготний локус з 12, 2 гомозиготні локуси з 12 і т.д.). За величиною коефіцієнта інбридингу всіх коней було поділено на 4 групи: 0 (аутбредні); 0,1–2; 2,1–4; 4,1 і більше.

Результати дослідження та їх обговорення. У результаті розподілу всього поголів'я за рівнем інбридингу виявилось, що найчисленнішою (41,03%) була група коней зі ступенем інбридингу 0,1–2. Дещо меншою була кількість аутбредних коней (30,76%) та з інбридингом 2,1–4 (17,95%). Найменш чисельною (10,26%) виявилась група коней з рівнем інбридингу 4,1 і більше, що свідчить про обмежене його використання.

Найменшим коливання ступеня гомозиготності було в аутбредних коней (16,67–58,33%). Тобто серед аутбредних тварин, які за Райтом є гетерозиготами, не було виявлено жодної тварини, гетерозиготної за мікросателітними локусами.

Гомозиготною за всіма 12-ма досліджуваними мікросателітами була лише одна тварина,

яка належала до групи зі ступенем інбридингу 0,1–2.

Група коней, рівень інбридингу яких становив 0,1–2, виявилася не лише найчисельнішою, а й мала найбільші коливання ступеня гомозиготності (0–75%). Водночас для коней з інбридингом 2,1–4 та 4,1 і більше максимальний ступінь гомозиготності становив 66,7%.

Для кожної групи тварин залежно від рівня інбридингу було визначено середні значення ступеня гомозиготності мікросателітних локусів. Для аутбредних коней цей показник становив 38,89%, для коней з інбридингом 0,1–2 він був нижчим — 31,25%. У групі з рівнем інбридингу 2,1–4 ступінь гомозиготності значно зростав — до 47,62%, водночас у тварин з інбридингом понад 4,1 знову спостерігали його зменшення до рівня 41,68%.

Незважаючи на такі хвилеподібні коливання ступеня гомозиготності залежно від рівня інбридингу, в цілому виявлено позитивну тенденцію до зростання ступеня гомозиготності. Подібні результати одержані й іншими вченими, в результаті чого також не було встановлено лінійної залежності між рівнем інбридингу та ступенем гомозиготності мікросателітів [5].

Висновки

У результаті проведених досліджень виявлено, що коефіцієнт Райта під час розрахунку рівня інбридингу не відображає дійсного ступеня інбридингу, а лише визначає імовірність переходу частки генів у гомозиготний

стан. Використання високополіморфних мікросателітних локусів дає змогу не лише підвищити точність визначення рівня інбридингу, а й одночасно провести підтвердження достовірності походження коней.

Бібліографія

1. Антипов Г.П. О научной обоснованности нового метода определения степени инбридинга//Зоотехния. — 2003. — № 2. — С. 2–5.
2. Близнюченко А.Г. Генетическая сущность инбридинга//Пути интенсификации отрасли свиноводства в странах СНГ: тез. докл. XIII межд. науч.-практ. конф. по свиноводству. — Жодино, 2006. — С. 21–23.
3. Головач М.И. Влияние уровня инбридинга на показатели и размеры коней гуцульской породы и их помесей //Наук.-техн. бюл./УААН. Ін-т тваринництва. — X., 2002. — № 82. — С. 48–51.
4. Кушнер Х.Ф. Наследственность сельскохозяйственных животных. — М.: Колос, 1964. — 487 с.
5. Храброва Л.А. Влияние инбридинга на степень гомозиготности чистокровных верховых лошадей по локусам микросателлитов ДНК//Коневодство и конный спорт. — 2010. — № 5. — С. 7–8.
6. Curik I., Zechner P., Sölkner J., Achmann R., Bodo I., Dovc P., Kavar T., Marti E., Brem G. Inbreeding, microsatellite heterozygosity, and morphological traits in Lipizzan horses//Journal of Heredity. — 2003. — V. 94. — P. 125–132.
7. Klemetsdal G., Johnson M. Effect of inbreeding on fertility in Norwegian trotter//Livestock Production Science. — 1989. — V. 21. — P. 263–272.
8. Sairanen J., Nivola K., Katila T., Virtala A.-M., Ojala M. Effects of inbreeding and other genetic components on equine fertility//Animal. — 2009. — V. 3 (12). — P. 1662–1672.
9. Van Eldik P., Van der Waaij E.H., Ducro B., Kooper A.W., Stout T.A.E., Colenbrander B. Possible negative effects of inbreeding on semen quality in Shetland pony stallions//Theriogenology. — 2006. — V. 65. — P. 1159–1170.

Надійшла 13.09.2013.