

СУЧАСНІ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ У ВІВЧАРСТВІ

Д. С. Харічев

khari4ev@gmail.com

Інститут тваринництва степових районів імені М. Ф. Іванова
«Асканія-Нова» - Національний науковий селекційно-генетичний
центр з вівчарства

вул. Соборна, 1, смт Асканія-Нова, Чаплинський р-н,
Херсонська обл., 75230, Україна

У статті наведено результати огляду літературних джерел стосовно сучасних молекулярно-генетичних досліджень овець в світі. Розглянуто методи аналізу на рівні структурних генів, що відповідають за прояв бажаних кількісних ознак, зокрема: гени репродуктивних ознак, які відіграють важливу роль у статевому розвитку і відтворенні, підвищують швидкість овуляції, що сприяє збільшенню плодючості вівці; поліморфні гени, які впливають на м'ясну продуктивність та спонукають до прискореного зростання м'язової тканини і розвитку організму тварини.

Крім цього, здійснено аналіз робіт стосовно поліморфізму білків молока, що впливають на формування показників молочної продуктивності вівцематок. Проаналізовано сімейство генів, які структурують гліцин-тирозинові білки, формують вовнове волокно. Розглянуто групу генів, що мають вплив на кератин-асоційовані білки овець.

В цілому, наведений результат аналізу літературних джерел свідчить про необхідність розвитку маркер-асоційованої селекції у вівчарстві України, яка забезпечить отримання додаткових прибутків завдяки скороченню генераційного інтервалу та цілеспрямованому формуванню високопродуктивних стад тварин.

Ключові слова: вівці, молекулярно-генетичні маркери, поліморфізм, маркер-асоційована селекція.

MODERN MOLECULAR GENETIC STUDIES in SHEEP BREEDING

D. S. Kharichev

khari4ev@gmail.com

Ascania Nova Institute of Animal Breeding in the Steppe Regions
named after M. F. Ivanov – National Scientific Selection-Genetics
Center for Sheep Breeding
1, Soborna Street, Askania Nova, Chaplynka district,
Kherson region, 75230, Ukraine

A review of scientific publications devoted to modern molecular genetic studies of sheep is presented. The methods of analysis the levels of structural genes, which are responsible for the manifestation of quantitative traits, have been studied. Specifically analyzed: the genes of reproductive traits that play an important role in reproduction and sexual development, they also increase ovulation rate and result in increased fecundity sheep; polymorphic genes, which associated with meat productivity, and they contributing to the accelerated growth of muscle tissue, as well as the development of the organism of animals as a whole.

In addition, the overview of the works, which considering the polymorphism of milk proteins that influence to the formation of indicators of dairy productivity of animals was done. The gene families that structure of the glycine-tyrosine proteins and form the synthesis of the wool fiber were analyzed also. Groups of genes, which affect the keratin - associated proteins of sheep, were considered.

The analysis of scientific publications demonstrates the need for the development of the marker-associated selection in the sheep breeding of Ukraine. This direction of selection will provide purposeful formation of highly productive herds, and obtaining additional profits by reducing of the generation interval.

Keywords: sheep, molecular genetic markers, polymorphism, marker-associated selection.

СОВРЕМЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОВЦЕВОДСТВЕ

Д. С. Харичев

khari4ev@gmail.com

Институт животноводства степных районов имени М. Ф. Иванова
«Аскания-Нова» - Национальный научный селекционно-генетический центр по овцеводству
ул. Соборная, 1, пгт. Аскания-Нова, Чаплинский р-н,
Херсонская обл ., 75230, Украина

Представлен обзор научных публикаций, посвящённых современным молекулярно-генетическим исследованиям овец. Рассмотрены методы анализа уровней структурных генов, отвечающих за проявление количественных признаков. В частности проанализированы: гены репродуктивных признаков, которые играют важную роль в половом развитии и воспроизводстве, повышают скорость овуляций и приводят к увеличению плодовитости овец; полиморфные гены, связанные с мясной продуктивностью, способствующие ускоренному росту мышечной ткани, а также развитию организма животных в целом.

Кроме того, сделан обзор работ, рассматривающих полиморфизм белков молока, влияющих на формирование показателей молочной продуктивности животных. Проанализированы семейства генов, которые структурируют глицин-тирозинные белки, формирующие синтез шерстного волокна. Рассмотрены группы генов, влияющие на кератин - ассоциированные белки овец.

Проведенный анализ научных публикаций свидетельствует о необходимости развития маркер-ассоциированной селекции в овцеводстве Украины. Данное направление селекции обеспечит целенаправленное формирование высокопродуктивных стад животных, и получение дополнительной прибыли благодаря сокращению генерационного интервала.

Ключевые слова: овцы, молекулярно-генетические маркеры, полиморфизм, маркер-ассоциированная селекция.

В сучасній селекційній практиці набирає активного розвитку геномна селекція сільськогосподарських тварин. Цей напрямок досліджень отримав назву маркер-асоційована селекція (MAS). На сьогодні більше 25 країн ведуть геномні дослідження різних видів тварин. Найбільшого розвитку з MAS набули велика рогата худоба, свині, вівці, кури та коні. Для цих тварин розроблені геномні карти QTL-генів. Однак в Україні великого розповсюдження ДНК-дослідження набули лише в галузі скотарства та свинарства, що дало змогу повною мірою оцінювати генетичний потенціал існуючих порід. Такі дослідження у вівчарстві майже не проводяться. Лідерами маркерної селекції та виробництва продукції вівчарства в світі є такі країни: Австралія, Нова Зеландія та країни Середземномор'я, науковцями яких визначено певні QTL-гени з різним рівнем поліморфізму.

Отже, на сучасному етапі розвитку галузь вівчарства в Україні потребує отримання додаткової генетичної інформації стосовно ная-

вності кореляційних зв'язків між QTL-генами та рівнем розвитку продуктивних ознак овець різних екологічних зон розведення і які успішно можна використовувати в селекційній практиці [14, 15, 16.]

Результати досліджень. *Гени репродуктивних ознак.*

Ген Бурула (FecB). Суть дії цього гена полягає у підвищенні швидкості овуляції, яке призводить до збільшення приплоду у вівці. У овець з цим геном дозріває відразу 4-12 яйцеклітин, що в результаті сприяє народженню 4-10 ягнят.

Тварини можуть успадковувати цей ген як від одного з батьків (гомозиготний), так і від обох (гетерозиготний). Одна копія гена Бурула збільшує швидкість овуляції в середньому на 1,6 овуляції за цикл, яка зазвичай прирівнюється до одного додатково народженого ягняти. Дві копії гена Бурула збільшують середню швидкість овуляції на 3,2 овуляції за цикл [7,8].

Ген FecB виробляє сильний інгібуючий ефект на лігандів GDF5 і BMP4, які зв'язуються BMPR-1B рецепторами. Ця дія пригнічує секрецію прогестерону з зернистих клітин, що пояснює збільшення концентрації фолікулостимулюючого гормону. У гомозиготних вівцематок BMPR-1B частково інактивується.

Мінливість обраних локусів добре вивчена на європейських [9], індійських та інших породах овець по всьому світі [7]. Ген кодує фактор диференціального зростання тканин 9 (GDF9 / FecG). Він локалізований на п'ятій хромосомі [10] і його мутантні алелі, що розрізняються за п'ятьма однонуклеотидними замінами, асоційованні зі зниженою фертильністю, а в гомозиготному стані призводять до стерильності особини. Аналогічна ситуація описана для наступного гена - BMP15 / FecX - одного з білків, що регулюють кістковий морфогенез. Цей ген додатково цікавий тим, що має зчеплене успадкування зі статтю [10,11].

Гени м'ясної продуктивності.

В експериментах на великих групах тварин найбільш яскравий фенотиповий прояв викликають дані стосовно поліморфізму декількох одинарних генів, які впливають на якість м'яса та його кількісні параметри, зокрема: **ген гормону росту (GH)**. В досліджах окремих авторів [1,2,3,21] показано, що суперекспрес гена GH призводить до прискореного зростання і розвитку організму тварини. При цьому можна очікувати, що зміни в рівні експресії або в структурі гена/білка можуть призводити до позитивного впливу на господарсько-корисні ознаки, в т.ч. приріст живої маси;

ген калліпіра. Фенотипово у овець мутація callipyge SNPCLPG проявляється м'язовою гіпертрофією, в першу чергу в області тазу і задніх кінцівок. М'язи у таких ягнят збільшені, з різним ступенем роз-

виту. У ягнят з цією мутацією проявляються деякі бажані господарсько-корисні характеристики і властивості м'яса: вищий відсоток виходу м'яса, велика філе, але при цьому м'ясо більш пісне та жорстке. Це обумовлено високим рівнем білка кальпастина, котрий не дає м'ясу дозрівати. У цих ягнят кращі якості туші виражаються у більшому виході м'яса на 30-46% (порівняно з ягнятами звичайної мускулистості) [2]. На додаток до цього, ягнята з калліпіга є більш продуктивними за м'ясними якостями при меншому щоденному поглинанні кормів, що проявляється в менших виробничих витратах. Отже, широке використання таких тварин потенційно здатне знизити вартість ягнятини для споживачів та підвищити рентабельність галузі вівчарства. У той же час, негативною ознакою, навіть пороком ягнят з цією мутацією є висока жорсткість м'яса [3];

кальпаїн (Calpain). У 1976 р було досліджено перший білок родини кальпаїнів, який відіграє ключову роль у декомпозиції м'яса, що відбувається після забою тварини. Система кальпаїна є комплексом протеолітичних і цитолітичних білків, яка включає в себе кальцій-залежну протеазу, що грає значну роль в зростанні м'язів і отриманні м'яса ніжної текстури після забою. Ферменти кальпаїна у живих овець контролюють ріст м'язів за рахунок контролю декомпозиції м'язових волокон. Після забою ферменти кальпаїна роблять м'ясо ніжнішим за рахунок декомпозиції Z-дисків скелетної мускулатури і ослаблення зв'язків між м'язовими волокнами;

кальпаастатин - це специфічний інгібітор кальцій-залежних протеолітичних ферментів (кальпаїна m і μ) в тканинах ссавців. Tahmourethpou et al. виявили генотип AC вівці, носії якого найкраще набирали живу масу. Також повідомляють про те, що вівці з генотипом AC набирали на 18% більшу масу тіла, ніж тварини з генотипом AA у гібридних Dorset і Cooperworth овець. Отже, поліморфізм овець за геном кальпаастатина може застосовуватися в якості маркера м'ясної продуктивності [1,2,3];

міостатин (MSTN). Це синтезований всередині організму білок, який пригнічує ріст і диференціювання м'язової тканини. За наявними даними, у людини і вищих хребетних MSTN є специфічним білком, який синтезується в скелетних м'язах і саме в них проявляються його біологічні ефекти [12,13]. При дефекті це придушення скасовується і тварина (або людина) отримує підвищену масу м'язів, не витрачаючи на це ніяких зусиль.

Вівці, які мають гомозиготний генотип, відрізняються на 10% вищою масою м'язової тканини і відповідно меншою масою жиру. Але при цьому у таких тварин спостерігають важкі пологи через перерозвиненості м'язів тазу у вівцематки. Відрізнити вівцю з подвійною мускулатурою можна і при огляді: у неї повинні бути широко розставлені

передні і задні кінцівки, рельєсно виражені м'язи на лопатках, шії і стегнах [14].

Гени молочної продуктивності.

Великого прогресу у підвищенні молочної продуктивності завдяки маркерній селекції набула галузь скотарства. Поліморфізм білків молока і їх вплив на показники молока, викликав інтерес науковців. Встановлено, що найбільш важливими білками молока є β -лактоглобулін і казеїн.

Стосовно інших видів тварин, зокрема овець, MAS ведеться менш інтенсивно. Щоб розширити ринок молочної продукції вівчарства необхідно оптимізувати методику визначення генотипів за локусами бета-лактоглобуліну та каппа-казеїну [5,21].

Ген бета-лактоглобуліну. Являє собою дуже цінний компонент молока, необхідний для росту молодняка, тому є головним білком молочної сироватки. Цей ген досить великий і складається з 7 екзонів, що охоплюють близько 4000 п. о., довжина ланцюга білка бета-лактоглобуліну становить 178 амінокислот. Ген локалізовано на 3-й хромосомі овець. На сьогодні у овець виявлено 3 його генетичних варіанти – А, В і С. Генотип ВВ асоційований з високим надоем молока, у той час як генотипи АА й АВ пов'язані з його хімічним складом та високою придатністю до вироблення сиру [4,5,21.]

Ген каппа-казеїну (CSN3). Пов'язаний з білковомолочністю і технологічними властивостями молока. Казеїни – група складних фосфопротеїнів, що забезпечують високу поживну цінність молока. Вони відіграють важливу роль у процесах виробництва сиру [6]. Молоко жуйних тварин містить у своєму складі 4 типи казеїнів: α s2, α s1, β , і к-казеїн. На сьогодні передбачається вивчення інших екзонів даного гена, для того, щоб визначити рівень їх генетичного поліморфізму і створити тести для практичного застосування при типуванні тварин за генотипами цих білків молока.

Гени вовнової продуктивності.

Вовна овець - це цінна сировина для промисловості. Виявлення генів, що регулюють ріст вовни, дає можливість поліпшити ефективність її виробництва [17]. До таких відносяться гени родини KAPs.

Родина генів KAPs (HGTPs). - це гліцин-тирозинові білки, також відомі як кератин-асоційовані білки, грають ключову роль в основних структурних і механічних властивостях волокон вовни. HGTPs овець складаються з трьох мультигенних родин: KAP6, KAP7 і KAP8 генів. Поліморфізм цих трьох генів істотно впливає на якість вовнового волокна. Кератин-асоційовані білки овець характеризуються часткою цистеїну або гліцину, тирозину та їх залишків. За їх амінокислотним складом кератин-асоційовані білки діляться на три групи: білки з високим вмістом сірки - KAP1.n, KAP2.n і KAP3.n; білки з ультрависокою

сіркою - KAP4.n, KAP5.n і високі гліцин-тирозинові - KAP6.n, KAP7, KAP8 [18,19,20.] Зокрема, найбільш суттєву зміну було виявлено по відношенню до вмісту високих гліцин-тирозинових білків, які відрізняються як всередині виду, так і між видами. Тому ця генетична різноманітність може впливати на структуру волокон вовни.

На сьогоднішній день поліморфізм виявлено в овечих генах KAP6, KAP7, KAP8 що вказує на можливість їх зв'язків зі змінами в діаметрі волокна, міцності і яскравості.

Таким чином, частина геному домашньої вівці характеризується наявністю певних поліморфних генів кількісних ознак продуктивності, використання котрих у маркер-залежній селекції сприятиме суттєвій інтенсифікації галузі вівчарства.

Список використаної літератури

1. Колосов Ю. А. Использование генофонда ставропольской породы для совершенствования сальских овец / Ю. А. Колосов, И. В. Засемчук, В. А. Святогоров // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. – Ставрополь, 2012. – Вып. 1. – Т. 2. – С. 48-53.
2. Mihailov N. V. Associations between PRLR /Alul gene polymorphism with reproductive, growth and meat traits in pigs/ N. V. Mihailov, L. V. Getmantseva, S. U. Bakoev, A. V. Usatov //Cytology and Genetics. – 2014. – Т. 48, № 5. – С. 323-326.
3. Леонова М. А. Распределение частот аллелей и генотипов гена лейкемия ингибирующего фактора у свиней различных пород / М. А. Леонова, Л. В. Гетманцева, А. Ю. Колосов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2. – С. 534.
4. Sheep milk protein polymorphism and its effect on milk performance of Polish Merino / [Mroczkowski S., Korman K., Erhardt G. at al.] // Arch. Tierz. – 2004. – Issue 47. – P. 114-121.
5. Polymorphism of β -Lactoglobulin Gene in Iranian Sheep Breeds Using PCRRFLP / Elyasi G., Shodja J., Nassiry M. R. at al. // Journal of Molecular Genetics. – 2010. – V. 2, I. 1. – P. 6–9.
6. Луполова Т. А. Генетический полиморфизм лактопротеинов и влияние локуса β Ig на показатели молочной продуктивности овец каракульской породы / Т. А. Луполова, В. С. Петку // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі, 2009. - №2. – С.87-89.
7. Зиновьева Н. А. ДНК-маркеры плодовитости овец / Н. А. Зиновьева, Е. А. Гладырь // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2006. – № 3. – С. 30–38.
8. Genetic polymorphism FecB and BMP15 genes and its association with litter size in Sangsari sheep breed of Iran / [M. M. Kasiriyn, H. Hafezeyan, H. Sayahzadeh at al] // Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2009. – № 8. – P. 1025–1031.
9. Use of the FecB (Booroola) gene in sheep-breeding programs: Proceedings

of the Helen Newton Turner Memorial International Workshop held in Pune (Maharashtra, India, 10–12 November 2008) / ACIAR Proceedings. – No. 133. – Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 2009 – 238 p.

10. Polymorphism of FecB gene in nine sheep breeds or strains and its effects on litter size, lamb growth and development / Feng Guan, Shou-Ren Liu, Guo-Qing Shi, Li-Guo Yang // *Animal Reproduction Science*. – 2007. – № 99. – P. 44–52.

11. The Booroola Fecundity (FecB) gene maps to sheep chromosome 6 / [G. W. Montgomery, G. Doods et al.] // *Genomics*. – 1994. – № 22. – P.148 – 153.

12. Fahrenkrug, S.C. Technical Note: Direct Genotyping of the Double-Muscling Locus (mh) in Piedmontese and Belgian Blue Cattle by Fluorescent PCR / S.C. Fahrenkrug [et al.] // *Animal Science*. – 1999. – 77: 2028-2030.

13. Коновалов В. С. Новые тенденции использования эволюционно-запрещенных мутаций в селекции крупнорогатого скота / В. С. Коновалов // *Современные проблемы эволюционной биологии: электрон. версия междунауч.-методич. конф. (12–14 февраля 2009 г.)*. URL: <http://darwin200.narod.ru>, свободный.

14. Onur YILMAZ1, Tamer SEZENLER2 , Nezh ATA1 , Yalçın YAMAN2 , İbrahim CEMAL1 , Orhan KARACA Polymorphism of the ovine calpastatin gene in some Turkish sheep breeds *Turk J Vet Anim Sci* (2014) 38: 354-357 doi:10.3906/vet-1401-13

15. Kolosov Yu. Sheep Breeding Resources in Rostov Region / Yu. Kolosov, L. Getmantseva, N. Shirockova // *World Applied Sciences Journal*. – 2013. – Т. 23, № 10. – P. 1322-1324.

16. Influence of Various Bio- Stimulants on the Biochemical and Hematological Parameters in Porcine Blood Plasma/ N. Karagodina, Y. Kolosov, A. Usatov [et al.] // *World Applied Sciences Journal*. – 2014. – No. 30. – P. 723-726.

17. Kuczek ES and Rogers GE (1987). Sheep wool (glycine + tyrosine)-rich keratin genes. A family of low sequence homology. *Eur. J. Biochem.* 166: 79-85. Marshall RC, Orwin DF and Gillespie JM (1991). Structure and biochemistry of mammalian hard keratin. *Electron. Microsc. Rev.* 4: 47-83.

18. Jin M, Wang L, Li S, Xing MX, et al. (2011). Characterization and expression analysis of KAP7.1, KAP8.2 gene in Liaoning new-breeding cashmere goat hair follicle. *Mol. Biol. Rep.* 38: 3023-3028.

19. Köhler A and Hurt E (2007). Exporting RNA from the nucleus to the cytoplasm. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8: 761-773.

20. Song XM, Jiang JF, Zhang GZ, Shi FX, et al. (2012). DNA polymorphisms of the Hu sheep melanocortin-4 receptor gene associated with birth weight and 45-day weaning weight. *Genet. Mol. Res.* 11: 4432-4441.

21. Помітун І. А. Гени, детермінуючі продуктивні якості та стійкість до хвороб овець / І. А. Помітун, О. А. Бойко, В. І. Россоха // *Науково-технічний бюллетень / Інститут тваринництва*. – Харків, 2011. – Вип. 104. – С. 173-182.