

**УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК
ІНСТИТУТ АГРОЕКОЛОГІЇ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ**

Тарасюк Сергій Іванович

УДК 575. 42. + 636. 32.

**ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ ОСНОВИ ЕКОЛОГІЧНОЇ АДАПТИВНОСТІ
СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ВИДІВ ТВАРИН**

03.00.16 -екологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора сільськогосподарських наук

Київ – 2002

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Інституті агроєкології та біотехнології УААН, м. Київ

Науковий консультант: доктор сільськогосподарських наук, професор **ГЛАЗКО Валерій Іванович**, Інститут агроєкології та біотехнології УААН, завідувач відділу молекулярно-генетичних досліджень, м. Київ;

Офіційні опоненти: доктор сільськогосподарських наук, професор, чл.-кор. УААН, **СЛАВОВ Володимир Петрович**, Інститут м'ясного скотарства УААН, завідувач відділу технології утримання та вирощування м'ясної худоби, м. Київ;

доктор сільськогосподарських наук, професор, чл.-кор. УААН, **КОВАЛЕНКО Віталій Петрович**, Херсонський Державний аграрний Університет, зав. кафедрою генетики с.-г. тварин, м. Херсон;

доктор біологічних наук, **ЛУКАШ Любов Леонідівна**, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, завідувач відділу генетики людини, м. Київ

Провідна установа: Білоцерківський державний аграрний університет Мінагрополітики України, м. Біла Церква

Захист відбудеться “25” вересня 2002 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д. 26.317.01 в Інституті агроєкології та біотехнології УААН за адресою: 09111 м. Київ, вул. Метрологічна, 12.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту агроєкології та біотехнології УААН.

Автореферат розіслано “25” серпня 2002 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради,

кандидат

хімічних

наук

Г.В. Заякіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Сучасний стан тваринництва характеризується необхідністю його інтенсифікації і, відповідно, індустріалізації. Наслідком цього є зміна використання генофондів сільськогосподарських видів, глобальне поширення генетичного матеріалу щодо невеликої кількості представників комерційних порід. Така практика поєднана з небезпекою зменшення генетичної різноманітності видів, накопичення генетичних дефектів.

Глобальне поширення невеликої кількості комерційних порід, основане на традиційних припущеннях про те, що дотримання технологій утримання і відтворення, достатньо для збереження бажаної продуктивності в практично будь-яких еколого-географічних умовах розведення. У той же час, накопичено велику кількість даних з екологічної генетики сільськогосподарських видів (Серебровский, 1928; Колесник, 1985; Раушенбах, 1949; Глазко, 1998), а також екологічної генетики людини (Ричков, Балановская 1996), у яких достатньо чітко виявлений тісний зв'язок між еколого-географічними особливостями місцеперебування груп організмів і їхньою фенотиповою мінливістю. Очевидно, що саме зв'язок організм (популяція) – середовище лежить в основі таких фундаментальних процесів, як еволюція, доместикація. За визначенням Шварца С.С. (Шварц, 1980), головною рушійною силою еволюційного процесу є “екологічні механізми перетворення популяцій”. Однак популяційно-генетичні процеси адаптації організмів до мінливих умов навколишнього середовища, у зв'язку з відсутністю зручних моделей і методів, досі залишаються недостатньо вивченими.

Одним із методів оцінки впливу, зокрема, умов розведення в нових місцях мешкання, а також при підвищеному техногенному забрудненні може бути аналіз генетичної структури породи, дослідження популяційно-генетичних механізмів адаптації тварин до нових умов. Такий аналіз може мати не тільки прикладний характер (оцінка ерозії генофондів видів сільськогосподарських тварин) в умовах сучасного тваринництва, але і фундаментально-теоретичний, пов'язаний з унікальними характеристиками цих видів у порівнянні з дикими видами. До них відноситься висока колонізаторська спроможність сільськогосподарських видів, широкий ареал, а також унікальна спроможність до формування всередині видів величезного спектру фенотипових варіантів (Baker, Manwell 1981). Так, основні види сільськогосподарських тварин підрозділені в даний час на породи і породні групи, що за своєю кількістю відповідають всім сучасним видам ссавців (Cunningham, 1996).

В зв'язку з цим, завданням даної роботи була оцінка особливостей генетичної структури порід і внутрішньопородних груп великої рогатої худоби й овець в залежності від різних умов природного і штучного доборів, в яких вони відтворюються, а також розробка методів оптимізації використання генофондів в умовах дії чинників техногенного забруднення і витіснення аутохтонних порід (звуження генетичної різноманітності). Варто підкреслити, що Україна є

власником ряду аутохтонних порід великої рогатої худоби й овець, що мають світове значення. Очевидно, що розробка генетично обґрунтованих програм по збереженню, поліпшенню і раціональному використанню генофондів локальних порід неможлива без глибоких досліджень особливостей їхніх генетичних структур. Такі дослідження являються також єдиною основою реконструкції генофондів аутохтонних порід і надалі, при повному їхньому зникненні, з помісних груп тварин.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана відповідно до тематичного плану наукових досліджень Інституту агроекології і біотехнології УААН “Вивчити генетичні наслідки екологічних стресів у різних видів тварин” (№0196U012073); згідно з договорами між Інститутом агроекології і біотехнології УААН і Чорнобильським Науковим Центром Міжнародних Досліджень №143 “Генетичні наслідки екологічного стресу в зоні відчуження Чорнобильської АЕС”, згідно з договором до проекту 3.05.02. /002-92: “Розробити методи ранньої діагностики особливо цінних бугаїв та баранів-плідників на основі використання біохімічних маркерів структурних генів та аналізу цитогенетичної мінливості клітин крові” за програмою 3.5/1994; “Селекція тварин за природною резистентністю з використанням клітинної та генної інженерії”; проекту Держкомітету науки і технологій України “Вивчення генетичних основ процесів доместикації” (№5/276-94); а також у відповідності з проектами, що пройшли конкурс наукових досліджень Міністерства освіти і науки України: проект “Еколого-генетичні методи збільшення резистентності с./г. видів до біотичних та абіотичних факторів” (№21115-97) і проект “Вивчення генофондів рідкісних та зникаючих порід ВРХ, овець та коней України в різних еколого-географічних умовах розведення” (Ф4/312-97).

Мета і завдання дослідження. Метою досліджень була розробка концепції оптимізації використання генофондів порід великої рогатої худоби (ВРХ) та овець в різних еколого-географічних умовах розведення. В експериментальній основі концепції було виявлення породних особливостей генетичних структур овець і великої рогатої худоби, з використанням різноманітних типів молекулярно-генетичних маркерів, а також порівняльний аналіз зв'язків цих особливостей з екологічними умовами відтворення порід і внутрішньопородних груп з чинниками штучного добору (історією походження, напрямками продуктивності).

До конкретних задач даного дослідження входило:

1. Порівняння генетичної структури аутохтонних і синтетичних порід овець (у тому числі і нових порід, які були отримані шляхом міжпородних схрещувань на різних стадіях породотворчого процесу) із використанням різноманітних типів молекулярно-генетичних маркерів.

2. Аналіз генетичної структури аутохтонних порід ВРХ із використанням молекулярно-генетичних маркерів; зіставлення інформативності використання різноманітних

типів молекулярно-генетичних маркерів (у тому числі таких як носогубне дзеркало).

3. Оцінка внутрішньопородної генетичної диференціації порід ВРХ у зв'язку з біотичними й абіотичними особливостями відтворення тварин (техногенне забруднення, інфікованість вірусом бичачого лейкозу, різноманітні еколого-географічні умови розведення тварин).

4. Оцінка можливості використання популяційно-генетичного аналізу порід овець і великої рогатої худоби для формування принципів генетично обгрунтованої концепції розведення тварин у різноманітних еколого-географічних регіонах України.

Об'єкт дослідження. Породи і внутрішньопородні групи овець, великої рогатої худоби окремих еколого-географічних регіонів та різних напрямків продуктивності.

Предмет дослідження. Популяційно-генетична адаптація різних груп тварин при інтродукції в нові умови відтворення.

Методи досліджень. Електрофоретичне розділення білків з використанням крохмального та поліакриламідного гель-електрофорезу; мікроелектрофорез; метод аналізу поліморфізму та успадкування алельних варіантів анонімних послідовностей геномної ДНК за низкою мікросателітних праймерів з використанням PCR-ISSR аналізу; оцінка поліморфізму структурних генів із використанням PCR-RFLP аналізу; метод візуальної оцінки поліморфізму фенів носогубного дзеркала; методи статистичного опрацювання експериментальних даних.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше сформульовано концепцію залежності генетичної структури порід сільськогосподарських видів від чинників штучного і природного доборів та видоспецифічного, породоспецифічного співвідношення внеску цих факторів в особливості генетичних структур досліджуваних порід і внутрішньопорідних груп тварин. Вперше наочно показано, що генетична структура порід овець в більшій мірі визначається чинниками штучного добору, а великої рогатої худоби - природного добору, ніж історією їхнього виведення. Виявлено, що у овець генетична структура помісних груп, одержаних при виведенні нових порід шляхом багатопородних схрещувань безпосередньо залежить від добору тварин за комплексом контрольованих морфо-фізіологічних ознак (штучний добір), а у великої рогатої худоби - від еколого-географічних умов розведення. Показано, що спостерігається послідовне підвищення рівня гетерозиготності, за дослідженим комплексом генетико-біохімічних маркерів, від широко поширених аутохтонних порід, далі до локальних аутохтонних порід і потім до синтетичних порід овець. Виявлено міжвидові відмінності у поліморфізмі таких локусів, як пуриннуклеозидфосфорилаза і рецептор до вітаміну Д, які, імовірно, можуть вносити певний доробок у різну "чутливість" овець і великої рогатої худоби стосовно чинників екологічного стресу.

Теоретичне і практичне значення отриманих результатів. Рекомендовано новий метод аналізу і контролю генетичної структури порід і внутрішньопорідних груп овець і великої рогатої

худоби, оснований на врахуванні розподілу алельних варіантів і фенів одночасно за групами маркерів, а також на основі врахування асоціацій між ними. Оцінено відносно інформативність різноманітних засобів маркування особливостей генетичної структури (генетико-біохімічні системи, анонімні фрагменти ДНК, фени носогубного дзеркала у великої рогатої худоби). Показано, що поєднання алельних варіантів за різноманітними типами молекулярно-генетичних маркерів може бути використане як додаткова породна характеристика. Показано, що генетична структура внутрішньопорідних груп великої рогатої худоби тісно пов'язана з впливом техногенного забруднення та еколого-географічними умовами їхнього відтворення. Виявлено специфічну залежність генетичної структури великої рогатої худоби молочного напрямку продуктивності (червона степова, голштинська породи) від рівня техногенного забруднення областей, у яких вони відтворюються, що може бути безпосередньо використане при розробці стратегії розведення спеціалізованих порід цього виду в різних регіонах України.

Особистий внесок здобувача. Нові теоретичні та експериментальні ідеї про механізми формування генетичної структури овець і великої рогатої худоби, що розробляються в дисертації, належать автору. Постановка проблеми, розробка програм досліджень, отримання і аналіз експериментальних даних виконувались автором особисто або безпосередньо під його керівництвом.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень були подані і доповідались на Міжнародних конференціях, симпозіумах: на I, II, III конференціях “Молекулярно-генетические маркеры животных” (Київ, 1994, 1996, 1999 pp); Congress of Cell Biology (Czechija, Praga, 1994); “Итоги 8 лет работ по ликвидации последствий аварии на ЧАЭС”(Зеленый Мыс, 1994); “Проблемы сохранения редких пород домашних животных и близкородственных диких видов” (Пушино, 1996); Animal Genetics (ISAG, France, 1996); EAAP (Norway, 1996, 1998); Physiology and Ethology of Wild and Zoo Animal (Berlin, Germany, 1996); “Агробіотехнології рослин і тварин” (Київ, 1997); “ДНК-технології ”(Київ, 1997); Conservation of endangered autochthonous animal breeds of danubian countries (Budapest, Hungary, 1998); Animal Genetics (ISAG, Auckland, 1998); “Biodiversity and the animal genetic resources protection” (Koshice, Slovakia, 1999); “Plant and Animal Genome” (San Diego, CA, 2000); Congress on Genes, Gene Families and Isozymes (Stockholm, Sweden, 2001); “Молекулярные механизмы генетических процессов и биотехнология” (Москва, 2001); Theriological Congress (Sun Sity, South Africa, 2001); “Перспективи розвитку скотарства в третьому тисячолітті” (Суми, 2001); “Досягнення і перспективи розвитку агробіотехнології в Україні” (Київ, 2002); Всеукраїнському з'їзді генетиків та селекціонерів (Ялта, 2002).

Публікації. За матеріалами роботи опубліковано 48 наукових праць – 29 статей у наукових журналах, збірниках праць, наукових вісниках, міжнародних бюлетенях та 19 повідомлень в матеріалах і тезах конференцій.

Обсяг і структура роботи. Дисертація складається з вступу, розділу “Огляд літератури”, розділу “Матеріали і методи”, трьох розділів отриманих власних результатів досліджень і їх обговорення, заключення, висновків і списку літератури що цитується. Текст дисертації проілюстрований 46 таблицями і 37 рисунками. Перелік літератури, що цитується, містить у собі 457 найменувань. Дисертаційна робота викладена на 301 сторінці друкованого тексту.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ

Матеріали і методи

Експериментальний матеріал для даної роботи було отримано при проведенні експедиційних досліджень 46-ти груп тварин (12 порід і 17 внутрішньопородних груп овець; 10 порід і 19 внутрішньопородних груп ВРХ) в різних регіонах України та Росії (табл. 1).

Таблиця 1

Основні досліджені породи тварин та їхня кількість

№	ПОРОДИ ТВАРИН	Кількість голів	РЕГІОН
ВІВЦІ (ВСЬОГО: 2196 гол.)			
1	Сокільська порода	36	Полтавська обл., племзавод "Сокільський"
2	Асканійська тонкорунна (1996, 1999, 2001)	110	Дослідне господарство Інституту степових районів УААН, Чаплинський р-н, Херсонської області.
3	Багатоплідний каракуль (1995, 1996, 1997, 1999, 2001)	189	
4	Романівська порода (1992, 1993)	1001	Господарства Ярославської обл., (Росія)
5	Алтайська порода	173	Господарство "Медведське", Алтайський край, (Росія)
6	Тексель	50	Експериментальна ферма Уельського університету, (Бангор, Англія)
7	Гірська Уельська	50	
8	Кембридж	108	
9	Кулундинська порода (1999, 2002)	70	Господарство "Черга", Алтайський край, (Росія)
10	Остфризська порода	84	Господарства Івано-Франківської обл. (Україна), та Кишинівської обл. (Молдова)
11	Цигайська порода (1993, 1994)	73	
12	Помісі цигаї х остфриз (F1, F2)	131	Господарства Кишинівської області, (Молдова)
13	Прекоз закарпатський	47	Племзавод "Прикордонник" Виноградівського р-ну і племферма "Нове життя" Мукачівського району, Закарпатської обл.
14	Закарпатський породний тип напівтонкововнових овець	94	
ВЕЛИКА РОГАТА ХУДОБА (ВСЬОГО: 1150 гол.)			
15	Сіра українська порода (1996, 1999, 2001, 2002)	151	Господарства "Асканія-Нова" Херсонська обл., (Україна) і "Черга", Алтайський край, (Росія)
16	Червона степова порода (1996, 2001)	171	Господарства Херсонської, Кіровоградської та Донецької областей.
17	Білоголова українська порода	27	Хмельницька обл. Красилівський р-н
18	Чорно-рябі голштини (1996-2001)	330	Господарства України та Росії
19	Червона польська порода	60	Тернопільська обл., Збаражський р-н
20	Пінцгау	105	Господарства Чернівецької області
21	Якутська порода (1999, 2002)	43	Господарство "Черга", Алтайський край, (Росія)
22	Бура карпатська порода	24	Дослідне г-во Закарпатського Інституту АПВ
23	Абердин-ангуси (1994, 1996)	85	Господарства Київської обл.
24	Симентали (1996, 2000, 2001)	154	Г-ва Київської, Сумської і Полтавської областей.

Примітка: в дужках вказані роки відбору зразків крові різних внутрішньопородних груп тварин

Автор виражає щирю подяку член-кор. УААН Макару І.А. (Інститут біології тварин УААН), доктору біологічних наук Кушніру А.В. (Інститут цитології і генетики СВ РАН), доктору с.-г. наук Іовенко В.М., к.с.-г. наук Туринському В.М., (Інститут степових районів УААН), доктору с.-г. наук Романову І.В. (Молдова) за надання зразків крові окремих порід для досліджень.

Аналіз поліморфізму білків і ферментів з використанням методів електрофорезу в крохмальному та поліакриламідному гелях. В якості молекулярно-генетичних маркерів для опису генетичної структури різноманітних груп тварин розглядали розподіл алельних і генотипових частот за локусами, що кодують низку білків і ферментів крові тварин (25 генетико-біохімічних систем - 29 локусів). До них віднесено такі транспортні білки, як гемоглобін (НВ), трансферин (ТФ), посттрансферин-2 (Ptf-2), церулоплазмін (СР), рецептор до вітаміну D (GC D), Х-білок (X-Protein), амілаза-I AM-I (КФ 3.2.1.1); ферменти внутрішньоклітинного енергетичного метаболізму - аденілаткіназа АК (К.Ф.2.7.4.3), ферменти гліколізу - поліморфізм регуляторного гену (LDR) лактатдегідрогенази LDH (К.Ф.1.1.1.27), гексокіназа ГК (К.Ф.2.7.1.1.), фосфоглюкомутаза FGM (К.Ф.2.7.5.1), глюкозофосфат ізомераза GFI (К.Ф.5.3.1.9); ферменти циклу Кребса - малатдегідрогеназа MDH (К.Ф.1.1.1.37), малік-ензим ME (К.Ф.1.1.1.40), ізоцитратдегідрогеназа IDG (К.Ф. 1.1.1.42); ферменти пентозофосфатного шунта - 6-фосфоглюконатдегідрогеназа 6-FGD (К.Ф.1.1.1.43), глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа G-6-FD (К.Ф.1.1.1.49); фермент метаболізму екзогенних субстратів - естераза плазми крові ES (К.Ф. 3.1.1.1), лужна фосфотаза AP (К.Ф.3.1.3.1), супероксиддисмутаза SOD (К.Ф.1.15.1.1), аденозиндезаміназа ADA (КФЗ. 5.4.4), лейцинамінопептидаза LAP (К.Ф.3.4.1.1), креатинкіназа УК (К.Ф.2.7.3.2); фермент метаболізму перекисних радикалів - діафораза DP (К.Ф.1.6.2.2), фермент метаболізму пуринових основ - пуриннуклеозидфосфорилаза PN (К.Ф.2.4.2.1).

Використовували метод горизонтального мікроелектрофорезу в 11-13% крохмальному гелі (Глазко, 1985), з власними модифікаціями з подальшим гістохімічним фарбуванням, а також метод вертикального поліакриламідного гель-електрофорезу (PAGE) (Gahne et al. 1977) із деякими власними модифікаціями.

Оцінка поліморфізму структурних генів із використанням PCR-RFLP аналізу. Для ампліфікації фрагмента гену лептину (LEP) використовували пару праймерів 5'GTCACCAGGATCAATGACAT-3'; 5'AGCCCAGGAATGAAGTCCAA-3'. Праймери були підібрані таким чином, щоб ампліфікований фрагмент ДНК містив у собі сайти розпізнавання, специфічні для А-, В- і С- алельних варіантів. Аналіз поліморфізму за локусом лептину проводився шляхом оцінки довжин рестрикційних фрагментів, одержуваних після обробки продукту ампліфікації (1820 п.н.) рестриктазою Sau3AI. Рідкісний поліморфізм по Sau3AI сайту (С-аллель) визначався за додатковими рестрикційними фрагментами у 470 п.н. і 220 п.н.

Для ампліфікації фрагменту гену капа-казеїну (CSN3) були використані праймери: А 5`-

ATGTGCTGAGCAGGTATCCTAGTTATGG-3` і В 5`-
ССАААAGTAGAGTGCAACAACACTGG-3`. Фрагмент ДНК довжиною 883 п.н., фланкований цими послідовностями, є ділянкою четвертого екзона гену CSN3 і включає сайти розпізнавання для рестриктаз, специфічних для А- і В- варіантів. Алейний варіант А має два сайти розпізнавання для рестриктази Pst 1, а алейний варіант В - один сайт. Рестрикцію проводили з ендонуклеазою Pst 1 у буфері Red (ендонуклеази і буфер фірми Sibenzime). Для проведення PCR використовувалися термоциклери фірми “ДНК-технология” (Росія), “Eppendorf” (Німеччина).

Аналіз поліморфізму анонімних фрагментів ДНК з використанням праймерів до мікросателітних локусів. Аналіз поліморфізму та успадкування алейних варіантів анонімних послідовностей геномної ДНК за низкою мікросателітних праймерів проводився з використанням PCR-ISSR аналізу.

Для ампліфікації фрагментів ДНК, фланкованих різноманітними мікросателітними локусами, використовували праймери з такими послідовностями: (AGC)₆G, (ACC)₆G, (CTC)₆C, (AC)₉G, (GA)₉C і (CT)₉G. Для визначення розмірів продуктів ампліфікації на кожному блоці використовували маркер молекулярних мас Step Ladder DNA S7025 (SIGMA). Весь спектр отриманих ампліконів підрозділяли на зони, що відрізняються на 100 пар нуклеотидів, і в цих межах умовно позначали амплікони, що відрізняються один від одного приблизно на 25 пар нуклеотидів. У діапазоні довжин ампліконів від 2.6 до 0.9 т.п.н. і понад 3.2 т.п.н. більш точні значення в умовах даного електрофоретичного поділу одержати важко, тому точні показники проміжних довжин ампліконів умовні.

Оцінка поліморфізму фенів носогубного дзеркала у великої рогатої худоби. Використано метод візуальної оцінки характеру нашкірної будови складок, що виконувався по знімках сфотографованих носогубних дзеркал тварин. Інформація оцінювалася на основі створення загального портрету (картини - малюнка). Основу класифікації малюнка склали три, що виділяються, феноознаки: форма, топографія шкірних валиків, наявність боріз (ліній) на носогубній площині тварини. Методика основана на розробках д.б.н. Трофименко О.Л. з власними модифікаціями. Виділяли 5 типів дерматогліфів, що розглядали як окремі фени й оцінювали частоти їх зустрічальності у груп тварин. Типи позначені як “колосок”, “гілка”, “крона”, “зерно” і “комбі”.

Статистичне опрацювання експериментальних даних. Статистичне опрацювання експериментальних даних проводили із застосуванням традиційних прийомів. Статистичну достовірність розходжень між групами оцінювали за допомогою критерію Ст'юдента (Плохинский, 1969). Для статистичного опрацювання даних використовували комп'ютерні програми “QUATTRO PRO”, “STATISTICA” і “BIOSYS-I” для розрахунку генетичних відстаней, побудови дендрограм (кластерний аналіз), а також для оцінки генної рівноваги відповідно до

закону Харді-Вайнберга.

“Чистопородне” розведення тварин в Україні

Україна, з багатовіковими традиціями сільського господарства, протягом всього існування колишнього Радянського Союзу, була основним виробником сільськогосподарської продукції. За останнє 10-річчя в Україні відбулася дуже швидка зміна породної і, відповідно, генетичної структури видів сільськогосподарських тварин. Причому, особливості цих змін дотепер залишаються недослідженими з генетичної точки зору, так само як і регіональна специфіка тваринництва. У зв'язку з цим, нижче будуть розглянуті досліджувані нами особливості порід і внутрішньопородних груп овець і великої рогатої худоби.

Формування генетичної структури аутохтонних і синтетичних порід овець під впливом чинників штучного і природного доборів

Особливості генетичної структури аутохтонних порід овець

Локальні аутохтонні породи овець. З метою вивчення особливостей генетичної структури аутохтонних порід, чисельність яких невисока в даний час і їхнє існування перебуває під загрозою, було розглянуто генетичну структуру трьох порід - смушевої сокільської, грубововнових - кулундинської та уельської. Для зручності викладу надалі ці породи позначаються як локальні, для того щоб підкреслити обмеженість їхнього поширення і жорстку прив'язаність до певних місцеперебувань, сокільської - до України, кулундинської - до Росії (Сибір), уельської - до Англії (графство Уельс).

Особлива увага до сокільської породи викликана тим, що вона відноситься до малочисельних аутохтонних порід овець України, історично сформувалася у певному агроекологічному ландшафті й адаптована до еколого-географічних умов розведення, характеризується унікальними особливостями одержуваної продукції. Розподіл алельних варіантів за 12-ма локусами, що виявилися поліморфними з 29-ти досліджуваних, подано в табл. 2.

Табл. 2

Генетична структура досліджуваних овець сокільської породи за 12-ма поліморфними генетико-біохімічними системами

Локус,алелі, генотипи	Генотипи (%), алельні частоти	Локус,алелі, генотипи	Генотипи (%), алельні частоти	Локус,алелі, генотипи	Генотипи (%), алельні частоти
TF (n)	35	LDH (n)	34	BB	54
ГенотипиAA	6	HH	33	Алелі А	0.300
(%) AB	17	HL	41	B	0.700

AC	11	LL	26	AP(n)	35
----	----	----	----	-------	----

Продовження таблиці 2.

AD	3	Алелі H	0.529	FF	17
AP	0	L	0.471	FS	54
BB	8	ME (n)	35	SS	29
BC	14	FF	46	Алелі F	0.443
BD	9	FS	48	S	0.557
BP	0	SS	6	LAP (n)	19
CC	23	Алелі F	0.700	AA	16
CD	6	S	0.300	AB	58
CP	0	EST (n)	34	BB	26
DD	3	RR	44	Алелі A	0.447
DP	0	RB	9	B	0.553
PP	0	BB	47	GC (n)	25
Алелі A	0.214	Алелі R	0.485	AA	0
B	0.286	B	0.515	AB	48
C	0.386	DP (n)	30	BB	52
D	0.114	FF	50	Алелі A	0.240
P	0.000	FS	47	B	0.760
PTf-2 (n)	29	SS	3	NP (n)	35
FF	30	Алелі F	0.730	Фенотипи H	40
FS	41	S	0.270	(%) L	60
SS	56	HB (n)	35	X-Protein(n)	35
Алелі F	0.241	AA	14	Фенотипи Pr+	40
S	0.759	AB	31	(%) Pr-	60

Примітка. n - кількість досліджуваних тварин

Виконано також аналіз електрофоретичних спектрів продуктів ISSR-ампліфікації з використанням праймерів (AGC)6G і (AGC)6C. Спектри продуктів ампліфікації ДНК-фрагментів містили 6-27 смуг (ампліконів) у залежності від вибраного праймеру. Розмір продуктів варіював у межах 2,5-0,5 т.п.н. Кожний продукт ампліфікації розглядали як окремий локус. У якості молекулярно-генетичних маркерів розглядалися тільки ті амплікони, що стабільно відтворювались не менш, ніж у 3 процедурах ампліфікації при використанні матриці ДНК тієї самої тварини. Слід зазначити, що отримані спектри при використанні в якості праймерів фрагментів, що відрізняються один від одного тільки на один “якорний” нуклеотид, призводили до формування

спектрів, що істотно відрізнялися за кількістю і молекулярною масою ампліконів. Це свідчить про високу точність відпалу і ампліфікацію більшості досліджуваних фрагментів ДНК.

Аналіз поліморфізму анонімних фрагментів ДНК дозволяє одночасно розглядати значну кількість локусів, проте всередині породи вони достатньо часто виявляються мономорфними. Середня гетерозиготність за досліджуваними локусами біохімічних маркерів склала в сокільської породи 18,4% (з врахуванням мономорфних систем). Очікувана гетерозиготність ISSR-PCR маркерів (46 локусів), розрахована за отриманими спектрами ампліконів, склала 36% .

При оцінці інформативності двох типів молекулярно-генетичних маркерів для аналізу внутрішньо- і міжпородної диференціації тварин на прикладі двох порід овець - сокільської і багатоплідного каракулю виявлено, що генетичні відстані (Nei, 1972, DN) між досліджуваними породами за біохімічними маркерами склала 0,070, а за локусами, представленими ампліконами – 0,839. Найбільш втягнутими в міжпородну генетичну диференціацію виявилася група транспортних білків (DN=0,141). Отримані дані дозволяють припускати, що ДНК-маркери зручні для оцінки міжпородних розходжень, а для дослідження внутрішньопородної генетичної диференціації більш інформативні біохімічні маркери.

Аналіз генетичної структури уельської породи (давньої гірської грубововнової породи, історично сформованої в графстві Уельс, Англія) і кулундинської породи (рис.1.) (відріддя овець “Золотої орди”, Сибір, Росія) дозволив одержати дані, що свідчать про виражену своєрідність їхньої генетичної структури.

Загалом, дослідження трьох аутохтонних порід овець України, Росії й Англії дозволяють зробити висновки про те, що кожна порода має своєрідну генетичну структуру.

Так, наприклад, у сокільської породи спостерігали специфічний розподіл алельних варіантів за локусами HB, PTF-2 і PN. Кулундинська порода мала унікальний розподіл алельних варіантів за двома локусами - LDR і DP, для уельської породи відмічено виражену порідну своєрідність розподілу алельних варіантів за локусом TF. Середня гетерозиготність на локус у особин цих трьох локальних аутохтонних порід, якщо враховувати тільки поліморфні локуси, виявилася досить високою (сокільська - 40,5 %, кулундинська порода овець - 35%, уельська гірська -34,7%).

За окремими продуктами ампліфікації (ISSR-PCR) також можливо виявити специфічні особливості генофондів досліджених порід, проте їхнє одержання більш трудомістке для аналізу і менш інформативне у відношенні до конкретної біохімічної функції, у порівнянні з генетико-біохімічними системами.

Генетична структура поширених аутохтонних порід овець (цигаї, прекос, тексель, остфризи). Аналіз генетичної структури цигайських овець із господарств Кишинівської і Івано-Франківської областей показав диференціацію тварин у зв'язку з різними регіонами

розведення. В групах Івано-Франківських овець виявлено підвищення гомозиготності за окремими локусами. При оцінці "нерівноваги за зчепленням" між алельними варіантами різних локусів отримано дані, що дозволяють припускати причину підвищеної гомозиготності в зв'язку з близькосторідним схрещуванням, оскільки в них, на відміну від групи Кишинівської області, виявляється статистично вірогідною ($P > 95\%$) підвищена частота зустрічальності разом визначених алельних варіантів в одному генотипі відразу за декількома локусами: PN і TF; ME і LDR; DP і HB (рис.2 А,Б). Проте, не можна виключити можливість, що така підвищена "інтегрованість" генофонду в цигайських овець даної локальності зумовлена специфічними особливостями штучного і природного добору.

За напрямком продуктивності порода прекокс відноситься до тонкорунного напрямку, остфризи і тексель - до напівтонкорунного молочного і м'ясного напрямків. У результаті виконаних досліджень відзначається висока частота зустрічальності алельного варіанту Tf B (0.500) у породі тексель. Три досліджені породи істотно відрізняються одна від одної за розподілом алельних варіантів за локусами TF, ME, HB, LAP, LDR і не відрізняються за локусами NP, EST, DP. Слід зазначити, що в міжпородну диференціацію цих порід головний доробок вносять інші локуси, ніж в міжпородну диференціацію групи грубововнових овець.

Виконані дослідження свідчать про дещо менш високий рівень середньої гетерозиготності за включеними в аналіз поліморфними генетико-біохімічними системами, у середньому, в широко поширених аутохтонних порід (25,0%, 30,9% і 36,3%) у порівнянні із сокільською - 40,5 %, кулундинською - 35,0% і уельською гірською - 34,7%. У даному випадку мова йде про деяку тенденцію до підвищеного рівня середньої гетерозиготності у локальних аутохтонних порід. Не можна виключити, що саме завдяки більш високому тиску штучного добору на широко поширені аутохтонні породи, рівень гетерозиготності у них дещо зменшується.

Генетична структура синтетичних порід овець (алтайська, асканійська, кембридж). Синтетичні породи за своїм походженням є більш складними, ніж аутохтонні породи. Для того, щоб з'ясувати, чи відбивається така складність на генетичних особливостях порід, у даному підрозділі подано дані виконаних досліджень розподілу алельних варіантів поліморфних генетико-біохімічних систем у таких синтетичних порід овець як алтайська, асканійська і кембридж.

Отримані дані свідчать про те, що подібності між породами варіюють від локусу до локусу. Так, за локусом LDR усі породи схожі, за локусом TF кожна з них характеризується унікальною структурою, за локусом EST унікальний розподіл виявляється тільки в алтайської породи, за локусом HB - у породи кембридж.

Загалом, для всіх трьох синтетичних порід характерний дещо підвищений рівень гетерозиготності у порівнянні із широко розповсюдженими аутохтонними породами. Очікується,

що така тенденція до збільшення рівня середньої гетерозиготності у синтетичних порід зумовлена особливостями їхнього походження, участю у формуванні їхніх різноманітних батьківських варіантів порід.

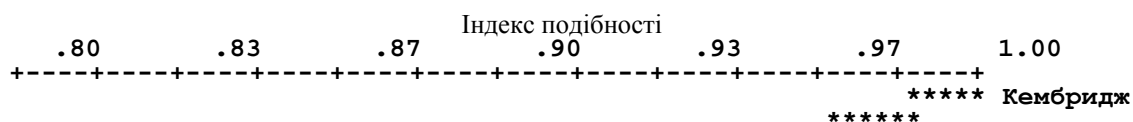
Таким чином, найменший рівень поліморфізму за поліморфними генетико-біохімічними системами виявляється у широко поширених аутохтонних порід, потім у локальних аутохтонних і синтетичних порід.

Диференціація порід у зв'язку з різноманітним походженням і напрямком продуктивності. Визначальний доробок в особливості генетико-біохімічної розмаїтості порід можуть вносити, принаймні, три основні причини - історія створення порід, еколого-географічні умови їхнього виведення і породоспецифічні характеристики продуктивності.

Для виявлення особливостей будови генетичної структури порід овець і оцінки можливого зв'язку їх із переліченими чинниками, виконані порівняння генетичної структури порід овець, кожна з яких мала свої особливості напрямку продуктивності, часу формування й умов розведення. Розглянуто генетичні структури трьох порід м'ясо-вовнового, тонкорунного напрямку: синтетичні асканійська, алтайська і більш давня - прекос; давня м'ясо-вовнова напівтонкорунна цигайська порода; три напівтонкорунних породи - синтетична кембридж, м'ясна - тексель, молочна - остфризи і грубововнові аутохтонні породи - уельська гірська, сокільська, кулундинська і романівська.

В результаті виконаних досліджень було отримано такі дані. За локусом PN у більшості досліджених порід, за деякими винятками (сокільська, наприклад) переважав алельний варіант N_p H, за локусом ME – Me F, за винятком цигайської породи. За локусом TF близькі всі тонкорунні породи: алтайська, асканійський мерінос і прекос закарпатський. Загальну групу за цим локусом також утворюють такі напівтонкорунні породи як кембридж, тексель і остфризи. Інша напівтонкорунна порода - цигаї, відрізнялася від них за розподілом алельних варіантів локусу TF, причому він співпадав (індекс ідентичності дорівнює 1) із таким у кулундинської вівці. Сокільська порода подібна за цим локусом з трьома напівтонкорунними породами: кембридж, тексель і остфризи, а гірська уельська порода з тонкорунними породами прекос закарпатський і алтайська. Відмічено унікальність генетичної структури романівської породи овець за цим локусом.

При побудові дендрограм на основі значень генетичних відстаней (рис. 3), отримано два кластери, перший (верхній) сформували породи переважно напівтонкорунного та грубововнового напрямків, інший - в основному, породи тонкорунного напрямку. Романівська порода займає автономне положення на дендрограмі, що, як видно, свідчить про її специфічну генетичну структуру.



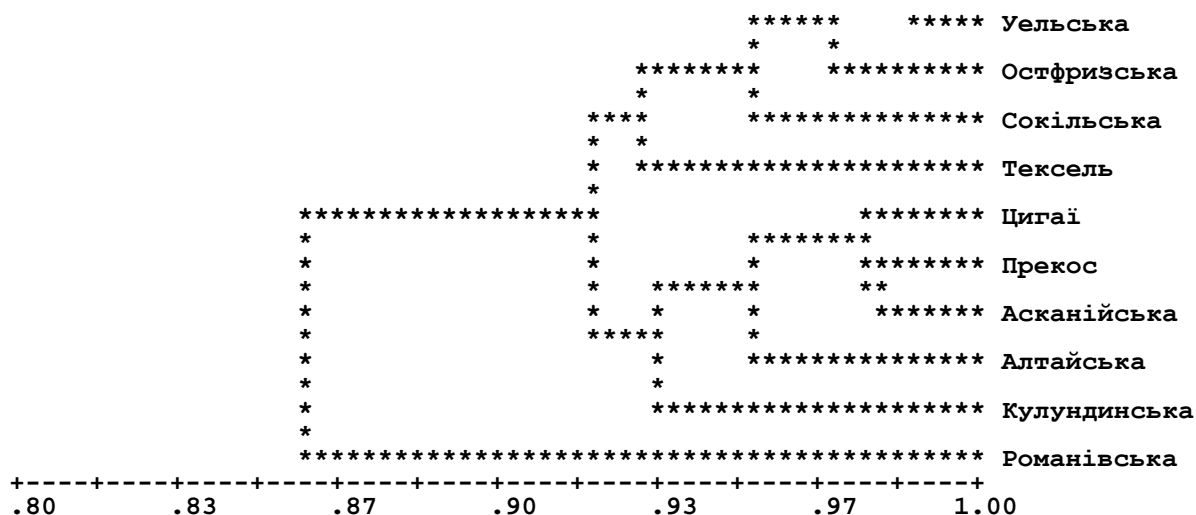


Рис. 3. Дендрограма генетичних взаємовідносин (індекс ідентичності) між породами овець, побудована на підставі розподілу алельних варіантів за поліморфними генетико-біохімічними системами.

Таким чином, виконано порівняльний аналіз генетичної структури 11-ти порід овець, що відрізняються за історією створення, еколого-географічними умовами розведення і характеристиками продуктивності. Розподіл алельних частот у різних порід варіюють від локусу до локусу й у більшості випадків не співпадають з міжпородною диференціацією, пов'язаною з історією їхнього походження й еколого-географічними особливостями умов розведення.

Загалом, отримані дані свідчать про те, що основний внесок в міжпородну диференціацію вносять чинники, пов'язані з напрямком продуктивності, до яких належать різні породи, в основному, у зв'язку з приналежністю до тонкорунних, напівтонкорунних або грубововнових типів овець. Очікується, що визначальний вплив на генетичну структуру порід овець мають чинники, пов'язані із штучним добром. Для того, щоб перевірити це припущення, було виконано дослідження змін генетичної структури при створенні шляхом штучного добору нових порід і породних типів із використанням міжпородних схрещувань.

Генетична диференціація груп овець при породоутворенні з використанням багатопородних схрещувань. Впровадження селекційних програм міжпородних схрещувань як одного з методів підвищення генетичного потенціалу продуктивності тварин потребує генетичного контролю цього процесу. Необхідно підкреслити, що використовують одержання багатопородних помісей, тому що вони за комерційними показниками перевершують двохпородні помісі.

Для того, щоб оцінити динаміку генетичної структури в такому процесі, а також виявити залучені в нього молекулярно-генетичні системи, виконано порівняльний аналіз генетичної структури материнської і покращуючих порід овець, що використовувалися при створенні нового породного типу закарпатських тонкорунних м'ясо-вовнових овець на основі тонкорунних порід -

прекос закарпатський, асканійської і алтайської порід. За генетичною структурою в алтайської породи відзначається статистично достовірний ($P < 0.05$) дефіцит гетерозигот одночасно за локусами LDR, EST, ME. У новій породної групи (1992, 1994 рр) такий дефіцит виявляється за локусами TF, EST, LAP. У решти груп досліджених тварин такого підвищення рівня гомозиготності одночасно за декількома локусами не спостерігалось, що свідчить про підвищену стабільність їхньої генетичної структури, у тому числі і новій породної групи 1995 р.

Кластерний аналіз, розрахунок якого оснований на алельних частотах поліморфних локусів, показав, що на ранніх етапах породоутворюючого процесу тварини знаходяться ближче до материнської породи. При селекційній роботі, при доборі тварин за комплексом морфо-фізіологічних ознак в сторону покращувачів, відбувається зближення генетичної структури з батьківською породою - асканійським меринсом (рис. 4).

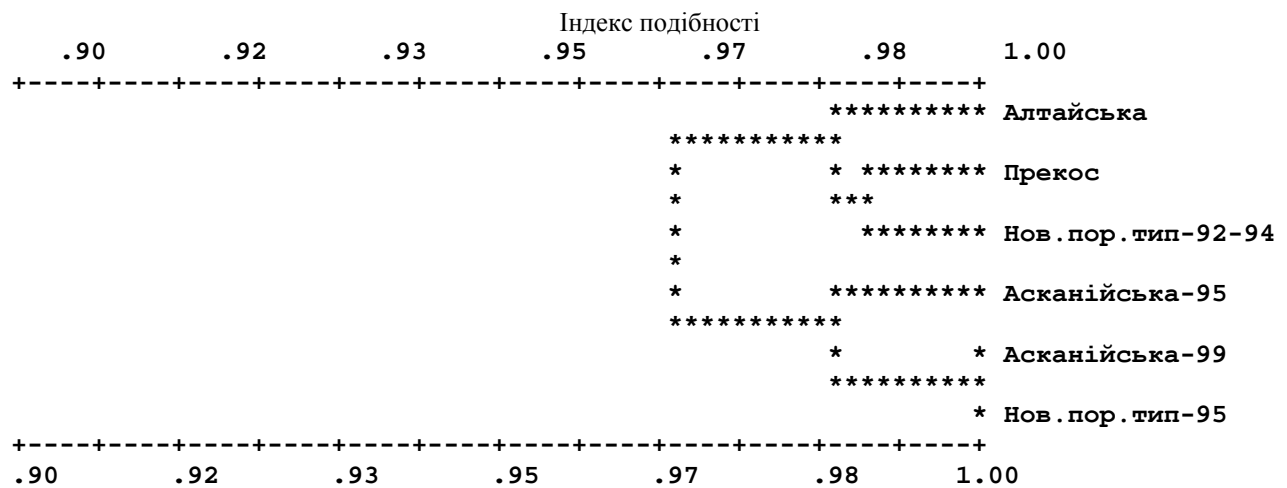


Рис. 4. Дендродіаграма генетичних взаємовідносин між породами овець, побудована на підставі індексу подібності М.Нея, розрахованого за розподілом алельних варіантів генетико-біохімічних систем у різноманітних порід овець

Отримані дані свідчать про незалежну мінливість розподілу алельних варіантів генетико-біохімічних систем у трьох вихідних батьківських порід і отриманих від них, шляхом багатопородних схрещувань, нової породної групи овець тонкорунного напрямку. За окремими локусами спостерігається асоційована генетична мінливість, що співпадає з диференціацією тварин за господарсько-цінними ознаками, із напрямком селекційної роботи (LAP, ME). Оскільки між цими локусами відсутнє фізичне зчеплення, очікується, що вони безпосередньо втягуються в полігенні комплекси, що детермінують формування відповідних господарсько-цінних ознак, за якими велася селекційна робота при створенні нового породного типу тонкорунних українських закарпатських овець.

Окремо, вплив ефектів штучного добору на генетичну структуру овець оцінювався на підставі досліджень динаміки розподілу алельних варіантів у новій породної групи асканійського багатоплідного каракуля (АМК). З метою аналізу розподілу алельних варіантів у процесі створення нової породи було виконано порівняння генетичної структури овець романівської і

сокільської порід, генофонди яких близькі до батьківських вихідних груп, оскільки в створенні смушевої сокільської породи каракульські вівці приймали безпосередню участь. Використовуючи різні типи молекулярно-генетичних маркерів (структурні гени, ISSR-PCR, рис. 5) розглянуто генетичну структуру АМК у різні роки селекційної роботи.

У досліджених представників сокільської породи, так само як і у романівських овець, було виявлено статистично достовірний дефіцит гетерозигот ($P < 0.01$ і $P < 0.05$ відповідно) за локусом EST, розподілення алельних варіантів за іншими локусами відповідало врівноваженому, відповідно до закону Харді-Вайнберга. У групі АМК-95 статистично достовірним ($P < 0.01$) виявився дефіцит гетерозигот за локусом гемоглобіну, у групі АМК-96 спостерігався надлишок гетерозигот за локусом TF ($P < 0.05$) і дефіцит гетерозигот за локусом LDR ($P < 0.01$). Дефіцит гетерозигот за локусом LDR ($P < 0.05$) виявлений і в групі АМК, взятого для аналізу в 1998 р. У групі АМК 1999 р. спостерігали статистично достовірний надлишок гетерозигот за локусом TF ($P < 0.01$) і дефіцит гетерозигот за локусом LAP ($P < 0.01$). За цими даними вочевидь, як поступово відбувається формування нової генетичної структури при формуванні породи в результаті селекційної роботи.

На підставі розподілу алельних частот за цими локусами було виконано розрахунок генетичних відстаней, а також кластерний аналіз генетичних взаємовідносин між групами досліджених тварин. За результатами дендрограми очевидно, що найбільш близькою до вихідних порід виявляється група АМК-95, вона і найбільш близька до романівської породи, яка займає автономне положення на дендрограмі. Всі інші групи АМК входять в один загальний кластер із сокільською породою, що також відповідає і напрямку штучного добору з цими вихідними помісними тваринами в сторону характеристик вовни, типових для каракулю високої якості.

Таким чином, на моделі виведення нової породи асканійського багатоплідного каракуля чітко видно, що генетична структура проміжних груп селекціонованих помісних тварин істотно змінюється під впливом штучного добору за досліджуваними поліморфними генетико-біохімічними системами.

Для оцінки внеску штучного добору у формування генетичної структури помісного потомства було також розглянуто генетичну диференціацію овець, отриманих від схрещувань цигаї х остфризи. Потомство першого покоління від схрещування - цигаї х остфризи (F1), а також другого - F1 х остфризи (F2) були поділені на дві групи - із "бажаними" сполученнями морфологічних характеристик у зв'язку з їхньою молочною продуктивністю, швидкостістю і живою масою і, відповідно, "небажаними". Аналіз генетичних дистанцій, розрахований на основі алельних частот поліморфних генетико-біохімічних систем показав, що найменші генетичні дистанції спостерігаються між групами тварин "бажаного" типу, а також "небажаного" типу, незалежно від їхньої належності до різних поколінь (F1, F2), а також між батьківською породою,

що є покращуючою, і групами тварин “бажаного” типу. Отримані дані свідчать про прямий вплив штучного добору, проведеного з комплексом морфо-фізіологічних характеристик, на особливості генетичної структури овець, отриманих при міжпородних схрещуваннях.

Таким чином, в результаті досліджень порід і помісних груп овець виявляються породоспецифічні особливості формування генетичної структури, різноманітні для порід різного напрямку продуктивності. При аналізі генетичної структури помісних груп, що представляють проміжні варіанти селекційної роботи з виведення нових порід із використанням багатопородних схрещувань, виявлено збіг напрямків селекційної роботи і змін генетичної структури в сторону покращуючих порід з бажаною продуктивністю. Отримано прямі дані про внесок добору за морфо-фізіологічними фенотипами овець в особливості генетичної структури помісних овець. Сукупність отриманих даних дозволяє стверджувати, що у формуванні генетичної структури у овець основний внесок роблять чинники штучного добору, у порівнянні з історією походження тварин та впливом умов розведення. Для того, щоб оцінити видоспецифічність такого зв'язку між чинниками штучного добору і формуванням генетичних структур у порід, у наступному розділі розглянуто генетичну структуру порід великої рогатої худоби з використанням такого ж набору молекулярно-генетичних маркерів, що й у овець.

Генетична структура аутохтонних і комерційних порід великої рогатої худоби

Проблема збереження генофондів локальних порід у даний час є важливою за цілою низкою причин. Очевидно, що в збереженні генофондів локальних порід першим принципово необхідним етапом є виявлення породоспецифічних особливостей їхньої генетичної структури. Це особливо важливо з наявною традицією використання для поліпшення локальних порід інших, комерційних. Для вирішення цих питань важливим етапом є оцінка ознак, генетичних маркерів, з використанням яких генетична структура порід може бути описана найбільш адекватно. У зв'язку з цим в наших дослідженнях розглядалися різноманітні підходи до виявлення породоспецифічних особливостей генетичної структури порід великої рогатої худоби, а також виконувалося порівняння інформативності застосування різноманітних типів молекулярно-генетичних маркерів (у тому числі таких, як носогубне дзеркало).

Порівняльний аналіз заводських (комерційних) та аутохтонних порід великої рогатої худоби України.

Україна є однією з небагатьох країн світу, в якій залишилися представники подолянської сірої худоби (сіра українська). Подолянська сіра степова худоба розглядається як проміжна група тварин між туром – диким предковим видом та всіма європейськими породами великої рогатої худоби.

Сучасні породи великої рогатої худоби прийнято підрозділяти на аутохтонні (локальні, аборигенні) та заводські (комерційні), основні відмінності котрих зумовлені різною інтенсивністю

штучного добору, а також розповсюдженням в різних еколого-географічних регіонах. Але, сіра подолянська худоба є предковою для обох груп цих порід.

Для того, щоб оцінити особливості генетичної структури порід цих двох груп, а також їхні взаємовідносини з предковою подолянською, було виконано порівняльний аналіз генетичної структури сірої української породи з аутохтонними та заводськими породами молочного і комбінованого напрямків продуктивності за рядом молекулярно-генетичних систем. У представників аутохтонних порід великої рогатої худоби України виявлені деякі виражені породоспецифічні особливості за частотами зустрічальності рідкісних алельних варіантів за рядом структурних генів. Алельний варіант, що зустрічається найрідше, Tf F, був нами виявлений тільки у тварин сірої української і білоголової української порід із частотами, відповідно, 0,050 і 0,017. Наявність алельного варіанту Tf F раніше описаного тільки у представників сірої степової худоби (*Bos primigenius podolicus*) - сіра українська, сіра угорська (Столповская и др., 1992), а також нами, у бурій карпатської породи (Глазко и др., 1996). Передбачалося, що сіра українська порода зберегла в собі деякі унікальні блоки генів, властиві предковій породі, подолянській сірій степовій худобі (*Bos primigenius podolicus*), проміжній формі між диким предковим видом туром (*Bos primigenius domesticus*), що вимер у XVII сторіччі (Браунер, 1927), і сучасними європейськими породами. Tf F може служити імовірним маркером таких генних комплексів. Присутність цього алельного варіанта в білоголової української породи описана нами вперше.

З метою оцінки розповсюдження алельних варіантів в некодуючих ділянках структурних генів, виконаний PCR-RFLP аналіз фрагменту гену лептину, з 1221 по 3041 нуклеотид, в основному, перший інтрон (позиції 1252 – 3005, GenBank). Аналіз продуктів рестрикції локусу лептину (LEP) дозволяє виявляти три алельних варіанти, описаних у літературі (Pomp et al., 1997), - А, В и С. За цим локусом у досліджених тварин спостерігали чотири генотипи - АА (розмір фрагментів ДНК 740, 690 і 400 п.н.); АВ (фрагменти 740, 690, 400, 310 і 90 п.н.); ВВ (740, 690, 310 і 90 п.н.); АС (розмір фрагментів 740, 690, 470, 400 і 220 п.н.). Рідкісний алельний варіант Lер С виявлений тільки у тварин двох порід із низькою частотою зустрічальності: білоголової української - 0,022 і червоної польської - 0,125. В усіх групах тварин переважаючим був алельний варіант Lер А. При аналізі алельних варіантів гену капа-казеїну (CSN3) найвища частота зустрічальності алельного варіанта В, серед досліджених порід великої рогатої худоби, спостерігалася у тварин бурій карпатської породи.

Аналіз генетичних дистанцій (M.Nei, 1972), отриманих шляхом порівняння розподілу алельних варіантів за 9-ти поліморфними генетико-біохімічними системами показав, що найменші генетичні відстані виявлені між сірою українською і червоною польською (0,085), між білоголовою українською і червоною польською (0,058), а найбільші - між сірою українською і білоголовою українською (0,150).

Виконаний аналіз генетичної структури порід з використанням багатолокусних спектрів продуктів ампліфікації анонімних фрагментів ДНК показав, що такі спектри, не зважаючи на виражений поліморфізм, виявляються складними для інтерпретування (рис. 6) і, мабуть, менш зручні, для пошуку рідких алельних варіантів, ніж структурні гени.

Отримані дані свідчать про те, що збереження рідкісних алельних варіантів у різних локальних порід локус-специфічне й, імовірно, для виявлення генних ансамблів у таких порід, що зв'язують їх із давнім предковим видом, необхідний аналіз багатьох локусів.

Генетична диференціація деяких м'ясних порід за молекулярно-генетичними маркерами. В умовах зменшення кількості поголів'я і в зв'язку з необхідністю, що зумовлена соціально-економічними причинами, перехід до ринкових відносин, одним з головних завдань тваринництва України є надійне виробництво високоякісної продукції: яловичини, телятини, шкірсировини, що можливо при розвитку області спеціалізованого м'ясного скотарства (Зубець, 1997). При виведенні порід в окремих випадках виникає необхідність додаткового прилиття крові порід, що історично брали участь у їхньому формуванні. Тому вивчення генетичної структури за молекулярно-генетичними системами дозволяє виявляти генетичні особливості селекційного матеріалу, оцінювати ступінь консолідації порід, ліній і їхньої диференціації в процесі селекції.

З метою виявлення породоспецифічних особливостей генетичної структури і розмаху внутрішньопородної мінливості, у наших дослідженнях було проведено порівняльний аналіз генетичної структури таких порід, як симентали вітчизняні та австрійської селекції, ангуси американської селекції і група абердин-ангусів шотландської і канадської селекції, що приймають участь у формуванні масиву м'ясної худоби в Україні.

Очевидно, що виявлення внутрішньопородних генетичних відмінностей, оцінка генетичної спорідненості між різними групами цих порід, допоможе уточнити селекційні схеми створення нових порід шляхом добору бажаних, із генетичної точки зору, варіантів схрещування.

Виконані дослідження показали, що внутрішня диференціація більш виражена для сименталів ($DN=0,037$), ніж для абердин-ангусів. Цікаво відзначити, що абердин-ангуси обох груп (особливо британські абердин-ангуси) виявилися ближче за генетичними відстанями до українських сименталів, ніж до австрійських. З метою збільшення ефективності селекційної роботи і збереження генофонду, адаптованого до умов вітчизняної селекції, необхідно враховувати ці дані при багатопородних схрещуваннях за участю сименталів і абердин-ангусів при виведенні нових м'ясних порід, високоадаптованих до умов розведення в Україні.

Носогубне дзеркало і генетико-біохімічні маркери як додаткові породні характеристики у великої рогатої худоби. Центральне місце в сучасних програмах по збереженню генетичних ресурсів сільськогосподарських видів тварин займає проблема збереження порід, що зникають (наприклад програми FAO, 1985-2001). Очевидно, що розробка методів ефективного збереження генофондів, неможлива без розвитку зручних методів діагностики специфічних особливостей генетичної структури кожної конкретної породи. У цьому зв'язку, одним із важливих напрямків у пошуках додаткових породоспецифічних характеристик порід великої рогатої худоби є порівняльний аналіз інформативної цінності, в цьому відношенні, різноманітних молекулярно-генетичних маркерів і фенотипових ознак (фенів, Яблоков, 1980), мінливість яких не залежить від факторів зовнішнього середовища, може бути виявлена в молодих тварин та може бути використана для ідентифікації їхньої породної належності. У зв'язку з чим

розглянуто закономірності межпородної диференціації за носогубним дзеркалом (рис. 7. А, Б) і рядом генетико-біохімічних систем у трьох локальних порід (бура карпатська, пінцгау, червона польська).

Особливий інтерес до цих порід пов'язаний із тим, що вони відносяться до порід, що зникають, істотно відрізняються за своїм походженням, історично сформувалися й адаптувалися до різних еколого-географічних умов. При оцінці статистичної достовірності відмінностей у частотах зустрічальності алельних варіантів різних локусів досліджуваних порід були отримані наступні дані. Статистично достовірні відмінності ($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$)

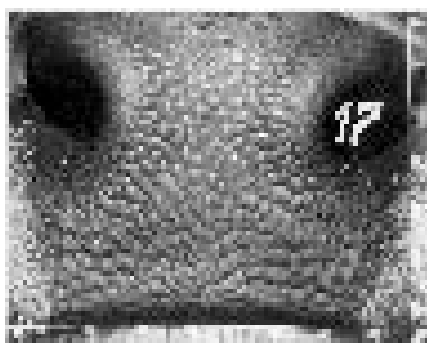


Рис. 7.А Тип "зерно" носогубного дзеркала у тварин червоної польської породи Корова "Волна" №4656.



Рис. 7.Б Тип "колосок" носогубного дзеркала у тварин бруї карпатської породи Бик №1090.

виявлені, в основному, між породами пінцгау і червоної польської за розподілом алельних варіантів TF і HB.

Аналіз частот зустрічальності різноманітних типів дерматогліфів носогубного дзеркала дозволив одержати якісно такі ж результати. Так, бура карпатська порода відрізнялася від пінцгау за частотою зустрічальності малюнку "крона", проте пінцгау і червона польська породи виявилися подібними за розподілом цієї ознаки (таб. 3). У свою чергу, червона польська і пінцгау статистично вірогідно ($P < 0.05$) відрізняються за розподілом фенів "гілка", "колос" і "комбі", за якими пінцгау збігається з бурою карпатською.

Отримані дані свідчать про те, що надійне диференціювання досліджених порід у розглянутому нами випадку можливе тільки при використанні різноманітних характеристик, як молекулярно-генетичних, так і фенів. Так, усі три породи можуть бути диференційовані при одночасному аналізі локуса TF і фену "крона", оскільки за локусом TF тварини породи пінцгау відрізняються від всіх інших порід, а за феном "крона" диференціюються бура карпатська і червона польська породи.

Таблиця 3

Частота зустрічальності дерматогліфів носогубного дзеркала у порід великої рогатої худоби

Дерматогліфи	Бура карпатська	Пінцгау	Червона польська
Гілка	0.117	0.184	0.054

Крона	0.416	0.200	0.254
Колос	0.117	0.150	0.070
Зерно	0.068	0.116	0.158
Комбі	0.283	0.350	0.473

Серед досліджених молекулярно-генетичних маркерів і фенів були відсутні ознаки, за якими кожна з досліджених порід мала породоспецифічні особливості. Породоспецифічними виявилися тільки сполучення таких ознак. З цього випливає, що для оптимізації генетичного маркування породного генофонду важливо підбирати певні сполучення маркерів, незалежно від їхньої причетності до таких фенів, як носогубне дзеркало, електрофоретичні варіанти білків або фрагментів ДНК.

Оцінка внутрішньопородної генетичної диференціації великої рогатої худоби в зв'язку з біотичними та абіотичними особливостями відтворення тварин. Сільське господарство в двадцятому сторіччі зіткнулося з необхідністю переходу від екстенсивного способу розвитку до інтенсивного. Це, у свою чергу, призвело до виникнення концепції розвитку стійких агросистем. Очевидно, що розробка підходів до формування таких систем є комплексним завданням і, насамперед, потребує аналізу генетичних компонентів агросистем.

Для того, щоб з'ясувати, чи є відмінності за генетичною диференціацією в заводських і аутохтонних порід, було виконане порівняння за 7-ми поліморфними генетико-біохімічними системами генетичної структури 9-ти груп голштинів, 3-х груп сименталів, 5-ти груп сірої української породи і 2-х груп якутської породи, що відтворюються в різних еколого-географічних умовах. У результаті було отримано наступні дані. Розмах рівнів середньої гетерозиготності на локус за 7-ми досліджуваними поліморфними генетико-біохімічними системами у двох комерційних порід (голштини та симентали) і двох аутохтонних порід (сіра українська і якутська) коливається в приблизно однакових межах (0,233 - 0,435) із чітко вираженою тенденцією до підвищення в тих груп тварин, що знаходяться в стадії адаптації до нових умов розведення. Тобто, отримані дані свідчать про те, що рівень середньої гетерозиготності в більшій мірі відображає особливості умов розведення тварин, ніж їх причетність до комерційних або аутохтонних порід.

У той же час, спостерігаються виражені відмінності між значеннями генетичних відстаней внутрішньопородних груп комерційних і аутохтонних порід. Найбільший розмах значень генетичних відстаней виявлено між групами голштинської породи (0,009 - 0,196), що відрізнялися історією походження й умовами розведення, потім - у груп комерційної симентальської породи (0,052 - 0,120). Найменший розмах мінливості генетичних відстаней виявлено між групами тварин аутохтонних порід – сірої української (0,023 - 0,087) та якутської (0,034), що відтворюються в різних еколого-географічних умовах.

Отримані дані дозволяють припускати, що аутохтонні породи є генетично більш консолідованими, ніж комерційні, і потребують менш істотних перетворень популяційно-генетичної структури при адаптації до нових умов розведення.

Для того, щоб перевірити наявність або відсутність впливу відмінностей в еколого-географічних особливостях агросистем на відтворення великої рогатої худоби, у наших дослідженнях було виконано аналіз генетичної структури внутрішньопородних груп різних порід, що розводяться в різних еколого-географічних зонах України. Виконаний аналіз внутрішньопородної диференціації за генетичною структурою червоної степової породи господарств Херсонської області (з низьким рівнем техногенного забруднення - В.А. Барановський, 2001 р.) та у зв'язку з стійкістю тварин до інфікованого вірусом бичачого лейкозу, а також у зв'язку з їхнім розведенням в умовах відтворення в Донецькій області (високий рівень техногенного забруднення) і в господарстві Кіровоградської області (підвищений рівень техногенного забруднення, В.А. Барановський, 2001 р.) Оцінено вплив техногенного забруднення в двох групах тварин голштинської породи. Одна група відтворювалась у відносно “чистому” господарстві Херсонської області, друга в першому і другому поколінні була народжена в експериментальному господарстві “Новошепеличі” - зони відчуження Чорнобильської АЕС, де рівень, зокрема, радіонуклідного забруднення досягав 200 Ки/км². У аналіз також включені тварини сірої української породи, одна група дослідного господарства “Асканія-Нова” Херсонської області і друга - нащадки тварин, завезених з Асканії-Нова в Чергу, Алтайський край, Росія.

В результаті виконаного аналізу отримано дані про те, що кожна порода і внутрішньопородна група характеризувалась своєю специфікою розподілу алейних варіантів. На цій підставі розраховані генетичні відстані і виконано кластерний аналіз, результати якого подані на рис. 8. Значення генетичних відстаней між внутрішньопородними групами, відтвореними в різних еколого-географічних умовах, змінюються в межах від 0,009 до 0,048. У той же час, генетичні відстані між породами можуть бути істотно менші, ніж між деякими внутрішньопородними групами. Отримані дані свідчать про те, що міжгрупові відмінності всередині однієї породи можуть перевищувати розходження між окремими породами.

Загалом, усі групи досліджених тварин формують два основні кластери. В один входять дві групи сірої української породи, в другий - всі інші, за винятком голштинів Чорнобилію, що займають на дендрограмі автономне положення. В свою чергу, кластер, що об'єднує групи червоної степової худоби, пінцгау і голштинів підрозділяється на два підкластери - в один входять тварини червоної степової породи, інфіковані вірусом бичачого лейкозу (“чутливі” до нього) і голштини з відносно “чистої” зони; у другий - червона степова порода з областей з високим і дуже високим рівнем техногенного забруднення (Кіровоград, Донецьк) і групи пінцгау (рис. 8).

Відзначається цікава особливість - групи червоної степової породи, що відтворюються в умовах техногенного забруднення, виявляються в одному підкластері з групами пінцгау, що відтворюються в несприятливих для цієї гірської породи умовах - рівнинних і високогірних. Тобто, відтворення цієї спеціалізованої молочної породи в умовах підвищеного техногенного забруднення призводить до зсуву її генетичної структури в бік неспеціалізованих порід. Та ж закономірність спостерігається і при аналізі генетичної структури груп голштинів, що відтворюються у відносно "чистій" зоні та у зоні відчуження Чорнобильської АЕС, генетична структура групи тварин, що відтворюється в зоні екологічної катастрофи зближується з типовою для неспеціалізованої породи, сірою українською.

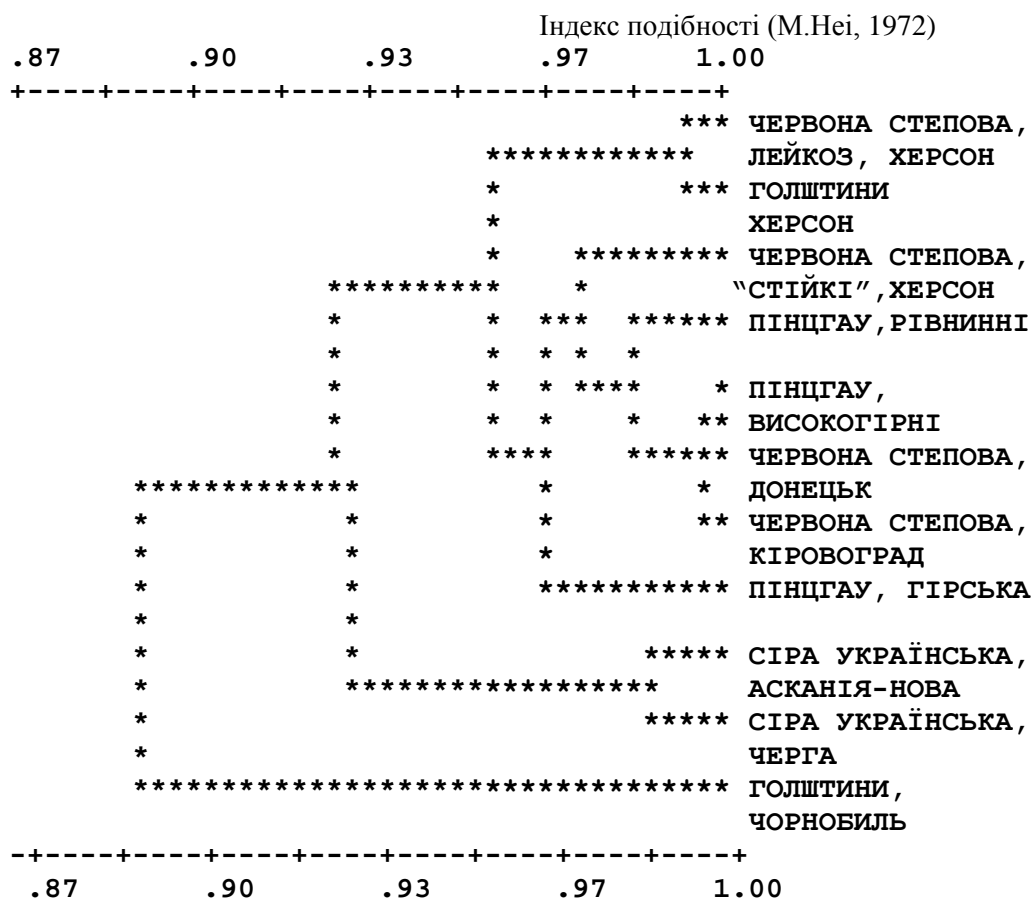


Рис. 8. Дендрограма генетичних взаємовідносин між породами і внутрішньопородними групами великої рогатої худоби, складена на підставі індексів ідентичності, розрахованих за розподілом алельних варіантів поліморфних генетико-біохімічних систем

Виконано аналіз "нерівноваги за зчепленням" алельних варіантів за різними структурними генами у досліджених порід. "Нерівновагу за зчепленням" розраховували тільки в тих тварин, у яких були ідентифіковані генотипи за всіма локусами, для яких добре відома їхня хромосомна локалізація: TF і CP синтенні і локалізовані в хромосомі 1; GC, CSN3 і HB - у хромосомі 6, AM-1 у хромосомі 3, LEP у хромосомі 4, NP у хромосомі 10 і pTF-2 - у хромосомі 19, тобто, "нерівновага за зчепленням" розглядалася серед двох пар синтенних локусів і чотирьох несинтенних локусів. У голштинів, що відтворюються у відносно "чистій" зоні та знаходяться під контролем інтенсивного штучного добору, не виявлено статистично достовірних відмінностей розподілу алельних варіантів за різними локусами від випадкового. У той же час у голштинів, зони відчуження Чорнобильської АЕС виявлено невідповідні асоціації серед алельних варіантів між двома парами синтенних локусів - TF і CP, GC і CSN3, а також між парою несинтенних локусів - CSN3 і pTF-2. Статистично достовірні асоціації між парами синтенних локусів ($P < 0,05$, $P < 0,01$) виявляються

також і при сумарному аналізі всіх досліджених тварин і в деяких локальних порід. Спостерігаються статистично достовірні, переважаючі асоціації між окремими алельними варіантами за локусами TF, NP і LEP в окремих порід.

Отримані дані дозволяють припустити, що порушення міжлокусних асоціацій між синтеними локусами, що спостерігається в голштинів, може бути пов'язане з ефектами штучного добору, оскільки такі асоціації виявляються в локальних порід і в групі голштинів Чорнобильської зони, селекційна робота серед яких практично не проводиться.

Судячи з розподілу алельних частот, помітний внесок у диференціацію груп тварин серед досліджених порід вносить поліморфізм за локусом рецептора до вітаміну Д (GC). Слід зазначити, що залучення у міжгрупову диференціацію локусу GC представляє собою особливий інтерес, оскільки його продукт бере участь у контролі внутрішньоклітинного обміну кальцію і, відповідно, вільнорадикальних процесів. Судячи з отриманих нами даних, накопичення алельного варіанту А за цим локусом (з найбільшою рухливістю в електричному полі), є істотним чинником для популяційно-генетичної адаптації тварин до несприятливих умов їхнього відтворення.

Таким чином, на підставі виконаного дослідження можна зробити висновок про те, що у формування генетичної структури великої рогатої худоби конкретні еколого-географічні умови їхнього розведення вносять істотно більший доробок, ніж породна належність і селекція у певному напрямку продуктивності. Важливу роль у популяційно-генетичній адаптації до біотичного та абіотичного чинників екологічного стресу може відігравати поліморфізм за локусом рецептора до вітаміну Д. Розведення молочної худоби в екологічно несприятливих умовах (добір на стійкість до вірусної інфекції, до техногенного забруднення) веде до зсуву їхньої генетичної структури від типової для молочної худоби, в сторону менш спеціалізованих порід комбінованого напрямку продуктивності.

Поліморфізм рецептора до вітаміну Д у овець і великої рогатої худоби. Для того, щоб оцінити адаптивну цінність поліморфізму локусу GC у сільськогосподарських видів тварин, розглянуто поліморфізм за цим локусом у різноманітних порід і внутрішньопородних груп великої рогатої худоби та овець. Виконано оцінку розподілу частот алельних варіантів за цим локусом у тварин різного напрямку продуктивності 17-ти порід і породних груп овець України і Росії, а також 11-ти порід і внутрішньопородних груп червоної степової породи, чорно-рябих голштинів, сірої української породи і пінцгау, що відтворюються в різних еколого-географічних умовах України і Росії.

При аналізі генетичної структури досліджених груп овець спостерігаються такі особливості. В загальному, найменші значення частот зустрічальності швидкого алельного варіанта Gc A спостерігаються в аутохтонних, древніх порід, поза залежністю від регіону їхнього походження (сокільська, кулундинська - 0,240; 0,306), на відміну від синтетичних за своїм

походженням порід кембрідж, асканійська, багатоплідний каракуль, українська закарпатська тонкорунна (0,433; 0,392; 0,371-0,550; 0,233-433; 0,325-0,479). Відзначається також очевидне зменшення частот зустрічальності цього алельного варіанту в поколіннях синтетичних порід, від вихідного типу, прямого нащадка міжпородної гібридизації, до кінцевого, поліпшеного типу в поколіннях багатоплідного каракуля і при виведенні української закарпатської тонкорунної породи. Отримані дані свідчать про високий рівень поліморфізму і гетерозиготності за локусом рецептора до вітаміну Д, а також про те, що частота зустрічальності алельного варіанту Gc A певною мірою може бути пов'язана з відносною консолідованістю нових породних груп овець, оскільки спостерігається чітко виражена закономірність зменшення частоти зустрічальності швидкого алельного варіанту A за цим локусом, у зв'язку зі ступенем консолідованості породи; у древніх порід він зустрічається рідше, ніж у синтетичних, а в помісних поколіннях при створенні порід у вихідних типів частіше, ніж у наступних поколіннях.

У великої рогатої худоби поліморфізм за цим локусом виражений істотно менше, ніж у овець. У багатьох порід швидкий алельний варіант Gc A зустрічається з низькою частотою. У той же час, виявляється, що під впливом різних чинників екологічного стресу відбувається чітка диференціація генетичної структури внутрішньопородних груп великої рогатої худоби. Отримані дані свідчать про те, що генетична структура досліджених внутрішньопородних груп за локусом рецептора до вітаміну Д виявляється високо "чутливою" до біотичних та абіотичних чинників умов відтворення тварин.

Отримані дані дозволяють зробити висновок – генетична структура порід овець і великої рогатої худоби має чітко виражену за рядом генетико-біохімічних систем специфіку. Така породна специфіка може бути виявлена і за структурними генами, і за поліморфними варіантами анонімних фрагментів ДНК з використанням методу ISSR-PCR. У великої рогатої худоби для виявлення породоспецифічних особливостей зручними маркерами являється поєднання алельних варіантів за окремими біохімічними системами і таких фенів, як дерматогліфи носогубного дзеркала. Зручність використання генетико-біохімічних систем порівняно з ISSR-PCR локусами зумовлена наявністю інформації про біохімічну функцію і хромосомну локалізацію перших, а ISSR-PCR маркерів - з можливістю оцінки поліморфізму одночасно великої кількості локусів. Своєрідність внутрішньопородної генетичної структури формується в овець переважно під впливом штучного добору (у зв'язку з належністю порід до різноманітних типів вовнової продуктивності), а у великої рогатої худоби на генетичну структуру значно більший вплив, ніж у овець, несуть біотичні та абіотичні умови їхнього відтворення (еколого-географічні відмінності місцеперебування, техногенне забруднення, інфекційні агенти). Цікаво відзначити, що в овець набагато частіше зустрічаються алельні варіанти локусу пуриннуклеозидфосфорилази з високою активністю, рецептора до вітаміну Д з високою рухливістю, ніж у великої рогатої худоби. У

внутрішньопородних груп великої рогатої худоби їх відносно підвищена частота зустрічальності, як правило, асоційована з добором на стійкість до різноманітних чинників екологічного стресу. Тобто, у порід цього виду виявляються загальні генетичні механізми відповіді на різні чинники екологічного стресу, що дозволяє припускати наявність спільних біохімічних компонентів стійкості, виявлення яких могло б сприяти відкриттю генетико-біохімічних і популяційно-генетичних механізмів адаптації генофондів груп тварин до різноманітних умов утримання, а також оптимізації добору визначених генотипів для конкретних агроекологічних умов розведення. Так, наприклад, отримані нами дані про зсув, при збільшенні техногенного забруднення місцеперебування, генофондів молочних спеціалізованих порід червоної степової і голштинів у сторону генофондів менш спеціалізованих порід (пінцгау, сіра українська) прямо свідчить про необхідність розробки принципово нової стратегії розведення молочної худоби з урахуванням специфічних особливостей агросистем, у які вони інтегруються.

ВИСНОВКИ

1. У роботі сформульована концепція породо- і видоспецифічної залежності генетичної структури від еколого-географічних умов розведення у овець та ВРХ. Вирішено проблему оцінки внеску у формування генетичних структур чинників штучного і природного доборів. У овець подібність генетичних структур, в основному, асоційована з належністю порід до подібних напрямків продуктивності, у великої рогатої худоби внутрішньопородна диференціація під впливом, зокрема, техногенного забруднення областей їхнього відтворення, перекриває міжпородні відмінності. Поліморфізм досліджених генетико-біохімічних систем у синтетичних і локальних аутохтонних порід овець вищий, ніж у широкорозповсюджених аутохтонних порід.

2. Генетичні взаємовідносини між породами овець асоційовані з їхньою належністю до груп порід різного напрямку продуктивності (тонкорунні, напівтонкорунні, грубошерстні породи) більшою мірою, ніж із специфікою історії їхнього походження, зокрема, еколого-географічними умовами виведення (гірські породи або рівнинні, південь України або Сибір). Генетичні відстані між породами різних напрямків продуктивності коливались в слідуючих межах: між грубошерстними породами $DN=0,042-0,169$; напівтонкорунними $DN=0,027-0,122$; тонкорунними $DN=0,028-0,068$.

3. Зміни генетичної структури помісних порід у процесі формування нових типів і порід відповідають напрямку селекції в напрямку “бажаного” фенотипу батьківської породи.

4. Диференціація генетичної структури помісних овець, у зв'язку з їхнім підрозділом на “бажаний” і “небажаний” фенотипи в двох поколіннях ($DN=0,030$; $0,051$) перекриває їхні

відмінності, пов'язані з належністю до першого або другого помісного покоління ($DN=0,026$; $0,007$), одержаних від схрещування цигаїв і остфризів.

5. Генетичні структури аутохтонних і заводських порід великої рогатої худоби характеризуються специфічними особливостями розподілу алельних варіантів за різноманітними типами молекулярно-генетичних маркерів.

6. Аутохтонні породи великої рогатої худоби характеризуються породоспецифічними особливостями поєднань рідкісних алельних варіантів (трансферин (Tf F); лептин (Lep C)), що маркують, очевидно, генні комплекси предкового генофонду, збереження якого породоспецифічне.

7. Підбір характеристик для виявлення породоспецифічних особливостей великої рогатої худоби може бути виконаний шляхом одночасної оцінки алельних варіантів за молекулярно-генетичними маркерами і також фенів, таких як малюнок носогубного дзеркала.

8. Внутрішньопородна диференціація великої рогатої худоби в зв'язку з біотичним чинником відбору (інфікованість вірусом бичачого лейкозу) і абіотичними (техногенне забруднення, еколого-географічні умови відтворення) виявляється більшою ($DN=0,009 - 0,167$), ніж міжпородна диференціація в зв'язку з їхньою належністю до порід молочного і комбінованого напрямків продуктивності ($DN=0,011 - 0,142$).

9. Підвищення частот зустрічальності “швидкого” алельного варіанту за локусом рецептора до вітаміну Д (Gc A) вносить істотний доробок у внутрішньопородну диференціацію груп великої рогатої худоби, пов'язану з впливом чинників середовища.

10. Виявлені міжвидові відмінності за частотою зустрічальності алельних варіантів локуса рецептора до вітаміну Д (Gc A) і пуриннуклеозидфосфорилази з високою активністю (Nr H), що збігається з різною “чутливістю” овець і великої рогатої худоби до відтворення в несприятливих умовах, дозволяє припускати безпосередню участь цих систем у популяційно-генетичній адаптації тварин.

11. Отримані дані про породоспецифічні особливості генетичних структур порід овець та великої рогатої худоби дозволяють пропонувати генетично обґрунтовані рекомендації їхнього збереження і використання, а також у випадку з великою рогатою худобою вносити зміни до стратегії ведення молочного скотарства в регіонах з різними рівнями техногенного забруднення.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Рекомендовано новий метод генетичної паспортизації тварин та порід ВРХ і овець на основі генетико-біохімічних маркерів, анонімних послідовностей ДНК (ISSR-PCR), а також за використання фенів носо-губного дзеркала у ВРХ.

2. На основі генетичних дистанцій між внутрішньопородними групами, запропоновано новий метод оцінки генетичної консолідації породних груп тварин.

3. Пропонується, при інтродукції порід в нові еколого-географічні умови розведення, враховувати зміни середньої гетерозиготності, частот зустрічальності алелей за локусом рецептора до вітаміну Д та пуриннуклеозидфосфорилази як показників ефектів популяційно-екологічної адаптації.

4. Пропонується використовувати аналіз генетичної структури груп тварин в конкретних господарствах для виявлення рівня загального техногенного забруднення та відповідних змін плану селекційної роботи зі спеціалізованими молочними породами ВРХ.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Глазко В.И., Столповский Ю.А., Тарасюк С.И., Букаров Н.Г., Попов Н.А. Генетическая структура породы пинцгау в карпатском регионе // Генетика. – 1996. – Т.32. – №5. – С. 676-682. (отримано експериментальні дані, опрацьовано літературні джерела, проаналізовано отримані результати, написано окремі розділи статті).

2. Тарасюк С.И., Глазко В.И., Трофименко А.Л. Носогубные и генетико-биохимические маркеры как дополнительные породные характеристики у крупного рогатого скота // Цитология и генетика. – 1997. – Т.31. – №4. – С. 89-94. (поставлені завдання, зібрані і проаналізовані експериментальні дані та написана стаття).

3. Глазко В.И., Столповский Ю.А., Тарасюк С.И., Букаров Н.Г., Попов Н.А. Изучение генетических особенностей бурой карпатской породы - местной исчезающей породы крупного рогатого скота Западной Украины // Генетика. – 1996. – Т.32. – №5. – С. 668-675. (поставлено завдання, зібрані експериментальні і літературні дані, їх проаналізовано та написаний текст статті).

4. Глазко В.И., Облап Р.В., Мариуца А.Е., Тарасюк С.И., Дымань Т.Н. Внутрипородная дифференциация пинцгау и бурой карпатской породы крупного рогатого скота в связи с эколого - географическими особенностями их разведения // Збірн. наукових праць Інст. землероб. УААН. – Київ. – 1998. – Вип. №1. – С. 282-291. (отримано експериментальні дані, опрацьовано літературні джерела, проаналізовано отримані результати, написано окремі розділи статті).

5. Тарасюк С.И., Янко Т.С. Цілуйко Г.О. Формування генетичної структури волинської м'ясної породи // Науково-виробничий бюлетень "Селекція". – Число п'яте. – БМТ, Київ. – 1998. – С. 153-155. (зібрано експериментальний матеріал, отриманно та опрацьовано результати експерименту, написаний текст статті).

6. Тарасюк С.И. Генетична структура у помісного потомства в порівнянні з вихідними породами // Збірн. наукових праць Інст. агроєкології і біотехнології УААН. – Київ. – 1998. – Вип. № 2. – С. 330-336.

7. Глазко В.И., Дымань Т.Н., Тарасюк С.И., Дубин А.В. Полиморфизм белков, RAPD-PCR и ISSR-PCR маркеров у зубров, бизонов и крупного рогатого скота // Цитология и генетика. – 1999. – Т. 33. – № 6. – С. 30-38. (поставлені завдання, зібрана частина експериментальних даних, досліджена і описана генетична структура сірої української та білоголової української порід худоби, зубра та бізона за групою транспортних білків та ферментів пуринового обміну, гемоглобіну, за проаналізованим матеріалом сформульовані висновки, написано окремі розділи статті).

8. Glazko V.I., Tarasjuk S.I., Kostetskii I.E., Zelenyi S.B., Dinnik V.V. Particularities of gene pools of some rare cattle breeds in Ukraine and Russia // Isozyme Bull. – 1996. – Vol.29. – P. 41.

9. Дымань Т.Н., Тарасюк С.И., Глазко В.И. Популяционно-генетическая характеристика породы пинцгау // Вісник аграрної науки. – 1999. – №11. – С. 45-49. (автором відібрані проби крові тварин, досліджена генетична структура породи, розраховані алельні частоти за допомогою комп'ютерної програми, написано окремі розділи статті).

10. Тарасюк С.И., Глазко В.И. Генетична структура деяких порід України // Наук. Вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім С.З. Гжицького. – Львів. – 1999. – С. 145-149. (поставлені завдання, отримано експериментальні дані, їх проаналізовано та написана стаття).

11. Тарасюк С.И., Городна О. В., Глазко В.И. Вплив різних факторів відбору на генетичну структуру у різних порід овець // Збірн. наукових праць Інст. агроєкології і біотехнології УААН. – Київ. – 1999. – Вип. №3. – С. 138-143. (поставлені завдання, отримані експериментальні дані, їх проаналізовано та написана стаття).

12. Тарасюк С.И., Глазко В.И., Макар І.А. Генетичні взаємовідносини між новою породою закарпатських тонкорунних овець та покращуючими породами // Збірн. Інст. землеробства УААН "Вчимося господарювати". – 1999. – Київ. – Чабани. – С. 289-292. (поставлені завдання, зібрані експериментальні і літературні дані, проаналізовано отримані дані, написана стаття).

13. Тарасюк С.И., Глазко В.И. Молекулярно-генетические маркеры и контроль в пороодообразовательном процессе у овец // Збірн. наукових праць Інст. агроєкології і біотехнології УААН. – Київ. – 2000. – Вып.№4. – С. 173-182. (поставлено завдання, зібрано експериментальні і літературні дані їх проаналізовано та написана стаття).

14. Глазко В.И., Макар И.А., Тарасюк С.И., Филенко А.Л. Генетическая структура закарпатских тонкорунных овец и ее связь с родительскими породами // Докл. Рос. Акад. – 2000. – №4. – С. 30-32. (поставлені завдання, зібрані експериментальні і літературні дані їх проаналізовано та написана стаття).

15. Дымань Т.М., Тарасюк С.И., Глазко В.И. Порівняння генофондів локальних порід великої рогатої худоби України за рядом генетико-біохімічних систем // Науковий вісник Національного

аграрного університету – Київ. – 2000. – С. 58-61. (автором сформульовані завдання, відібрані проби крові тварин, досліджена генетична структура окремих порід худоби за транспортними білками, за проаналізованим матеріалом сформульовані висновки, написано окремі розділи статті).

16. Тарасюк С. І., Бочков В.М., Глазко В.І. Диференціація деяких м'ясних порід за молекулярно-генетичними маркерами // Вісн. аграр. науки. – 2000. – № 8. –С. 43-46. (автором поставлені завдання, отримані експериментальні дані, проведено їх аналіз та написана стаття).

17. Димань Т.М., Городная А.В., Тарасюк С.И., Глазко В.И. Участие маркеров структурных генов и анонимных последовательностей ДНК в генетической дифференциации у видов рода *OVIS* // Цитология и генетика. – 2000. – №6. – С. 49-58. (автором поставлені завдання, досліджена генетична структура кулундинської вівці та сокільської породи овець за біохімічними маркерами, досліджена генетична структура АМК, кулундинської вівці та сокільської породи овець за маркерами ISSR-PCR при використанні тринуклеотидних праймерів, написана частина статті стосовно проаналізованого матеріалу і сформульовані по ньому висновки).

18. Городная А.В., Тарасюк С.И., Ошовский В.В., Туринский В.М., Глазко В.И. Информативность различных типов маркеров (белки, ДНК-маркеры) при сравнении генофондов на примере двух пород овец // Доповіді Національної академії наук України, – 2001. – №4. – С. 171-178. (автором поставлені завдання, отримані експериментальні і літературні дані, зроблений їх аналіз та написана стаття).

19. Тарасюк С.И., Глазко В.И. Влияние различных факторов отбора на формирование генетической структуры у домашних животных // Цитология и генетика. – 2001.– №1 – С. 65-73. (здобувач визначив завдання, зібрав експериментальні дані, провів їх аналіз та написав окремі розділи статті).

20. Глазко В.И., Звезховски Л., Облап Р.В., Тарасюк С.И. Генетическая структура локальных пород крупного рогатого скота Украины // Цитология и генетика. – 2001. – №2. – С. 32-38. (автором поставлені завдання, отримані експериментальні і літературні дані, зроблений їх аналіз та написана стаття).

21. Тарасюк С.І., Городна О.В., Малієнко В.А., Глазко В.І. Унікальні гени аборигених порід великої рогатої худоби України // Вісник аграрної науки. – 2001. – №4. – С. 48. (здобувачем постановлені завдання, отримані експериментальні дані, проаналізовано їх та написана стаття).

22. Тарасюк С.І., Димань Т.М., Глазко В.І. Генетичні та фенотипові особливості білоголової української породи // Вісник аграрної науки. – 2001. – №8. – С. 42-45. (внесок здобувача полягає у постановці завдання, відборі зразків, дослідженні генетичної структури породи за окремими локусами біохімічних маркерів, сформульовані висновки, підготовці остаточної редакції тексту статті).

23. Тарасюк С.І., Глазко В.І., Макар І.А. Використання генетико-біохімічних маркерів у породоутворювальному процесі. // Зб. наукових праць "Генетика на межі тисячоліть". – 4 томи. – 2001. – Т. №1. – С. 428-432. (здобувачем поставлені завдання, отримані експериментальні дані, написано окремі розділи статті).

24. Gorodna A.V., Tarasjuk S.L., Glazko V.I. The population-genetic analysis of structure of two breeds of sheep. // Isozyme Bull. – 2001. – P.77-78.

25. Тарасюк С.І., Городная А.В., Глазко В.І. Генетический мониторинг некоторых пород КРС содержащихся в различных эколого-географических зонах Украины // Збірн. Сумського держуніверситету за мат. міжн. наук.-практ.конф." Перспективи розвитку скотарства у третьому тисячолітті " – Суми. – С. 162-163 . (здобувач визначив завдання, зібрав експериментальні дані, провів їхній аналіз та написав окремі розділи статті).

26. Тарасюк С.І. Комплексний аналіз генетичної структури овець сокільської породи за різними типами молекулярно-генетичних маркерів // Вісник аграрної науки. – 2001. – №7. – С. 59-63.

27. Тарасюк С.І., Глазко В.І. Использование генетических маркеров при создании новых пород крупного рогатого скота // Докл. Рос. Акад. с/х наук. – 2002. – №1. – С.27-30. (особистий внесок здобувача полягає у постановці завдання, зборі експериментальних і літературних даних їх аналізі та написанні статті).

28. Глазко В.І., Тарасюк С.І., Копилов К.В. Техногенне забруднення і розведення великої рогатої худоби // Екологічний вісник. – 2002. – №3. – С. 13-14. (особистий внесок здобувача полягає у постановці завдання, отриманні експериментальних даних, їх аналізі та написанні частин статті).

29. Тарасюк С.І. Динамика генетической структуры по полиморфным генетико-биохимическим системам в процессе создания асканийского многоплодного каракуля // Агроекологічний журнал. – 2002. – №2. – С. 70-73.

30. Тарасюк С.І., Глазко В.І. Динамика аллельных частот в поколениях помесных животных скрещиваний симменталы х красно-пестрые голштины // Молекулярно-генетические маркеры животных: Тез. докл. II междунар конф. – Киев. – Аграрна наука. – 1996. – С. 41.

31. Глазко В.І., Костецкий И.Е., Тарасюк С.І., Лисовский И.Л., Дынник В.В. Локальные породы как источник хозяйственно-ценных генов // Проблемы сохранения редких пород домашних животных и близкородственных диких видов: Тез. докл. междунар. конф. – Пушино. – 1996. – С. 20.

32. Tarasjuk S.I., Glazko V.I. The changes of allele frequencies in offspring of simmental and red holstein crosses // XXVth International of Animal Genetics (ISAG – International Society of Animal Genetics). – Tours-France. – 1996. – P. 132.

33. Tarasjuk S.I., Glazko V.I. Genetic evolution of differentiation between cattle breeds of distinguished productivity // EAAP, Norway. – 1996. – P. 143.

34. Glazko V.I., Jasinetzkaja N.I., Glazko G.V., Tarasjuk S.I. Differences of Genetic Polymorphism Between Domestic and wild species in Genetic Biochemical Systems // I-st Inter. Symp. on Physiol. and Etology of Wild and Zoo Anim. – Germany. – Berlin. Sept. 18-21. – 1996. – P. 134.

35. Тарасюк С.И., Глазко В.И. Оценка генетических эффектов зоны отчуждения Чернобыльской АЭС у мышевидных грызунов с использованием молекулярно-генетических маркеров // Тез. докл. Межд. конф. "Агробиотехнологии растений и животных". – Киев, 29-30 мая 1997. – С. 137-138.

36. Тарасюк С.И., Петренко И.П., Глазко В.И. Генетическая структура и доля "кровности" при выведении новой молочной породы путем положительных скрещиваний // Тез. докл. Межд. конф. "ДНК-технологии". – Киев, 20-21 ноября 1997. – С. 59-60.

37. Glazko V.I., Oblap R.V., Zhuravel E.V., Tarasjuk S.I., Kushnir A.V. Genetic structure of some lokal cattle and horse breeds // Inter. conf. on conservation of endangered autochthonous animal breeds of danubian countries. – Budapest. – Hungary. – 1998. –D.10.

38. Glazko V.I., Zhuravel E.V., Oblap R.V., Glazko G.V., Tarasjuk S.I. Associations between synthenic and non-synthenic loci in cattle breeds and intra-breed groups // XXVIth Intern. Conf. on Animal Genetics. – Auckland, 1998. – P. 14.

39. Тарасюк С.И., Глазко В.И. Генетическая структура локальных пород крупного рогатого скота // Тез. докл. Межд. конф. "Молекулярно-генетические маркеры". – Одесса. – 1999. – С. 58.

40. Тарасюк С.И., Цілуйко Г.О., Глазко В.И. Генетична структура поліської м'ясної породи за молекулярно-генетичними маркерами // Тез. докл. III Междунар. конф. "Молекулярно-генетические маркеры животных". – Киев. – 1999. – С. 25.

41. Тарасюк С.И., Бочков В.М., Глазко В.И. Порівняльний аналіз внутрішньо- та міжпородної диференціації за молекулярно-генетичними маркерами абердин-ангусів та сименталів // Тез. докл. III Междунар. конф. "Молекулярно-генетические маркеры животных". – Киев. – 1999. – С. 80.

42. Tarasjuk S.I., Glazko V.I. Genetic structure of Ukrainian local cattle breeds // Int. Dage gene workshop "Biodiversity and the animal genetic resources protection". –Slovakia. – Koshice, 21-23 Sept. 1999. – P. 471.

43. Tarasjuk S.I., Oblap R. V., Trjapicina N.V., Glazko V.I. Genetic structure of *Mus musculus L.*, *Apodemus sylvaticus L.*, *Clethrionomys glareolus L.* Traping in zone of alienation around of Chernobyl's nps // 8th International Theriological Congress. – South Africa. – Sun Sity, 12-17 August. – 2001. – G. 48.

44. Тарасюк С.И., Городная А.В., Малиенко В.А., Глазко В.И. Генетическая структура серой украинской породы по структурным генам и анонимным последовательностям ДНК // Mat.

Межд. конф. " Молекулярные механизмы генетических процессов и биотехнология ". – 2001. – Москва. – С. 67.

45. Gorodnaya A. V., Tarasjuk S. I. , Kruglenko A. P., Glazko V. I. Genetic structure of Grey Ukrainian, White-Head Ukrainian and Holstein cattle breeds // 11 th Internat. Congress on Genes, Gene Families and Isozymes. – Sweden. – Stockholm, June 30-July 4, 2001. – P. 205.

46. Tarasjuk S.I., Gorodnaja A.V., Glazko V. I. Different types of molecular-genetic markers (proteins, ISSR-PCR) in comparison of some Ukrainian sheep breeds // 11 th Internat. Congress on Genes, Gene Families and Isozymes. – Sweden. – Stockholm, June 30-July 4, 2001. – P. 203.

47. Тарасюк С.И., Петренко И.П., Глазко В.И. Проблема искусственного и естественного отбора в селекции крупного рогатого скота // Збірн. Сумського держуніверситету за мат. міжн. наук. - практ. конф." Перспективи розвитку скотарства у третьому тисячолітті " – Суми. – 2001. – С. 164-166.

48. Глазко В.И., Облап Р.В., Тарасюк С.И., Глазко В.И. Поліморфізм господарськи цінних генів у великої рогатої худоби // Вісник аграрної науки. – 2002. – №5. – С. 79.

АНОТАЦІЇ

Тарасюк С.И. Популяційно-генетичні основи екологічної адаптивності сільськогосподарських видів тварин. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук зі спеціальності 03.00.16. – екологія. – Інститут агроєкології і біотехнології УААН, Київ, 2002.

Наявність і механізми формування породоспецифічних особливостей генетичних структур сільськогосподарських видів тварин, їхня залежність від еколого-географічних умов, дотепер залишаються недослідженими.

У роботі сформульовано концепцію і вирішено проблему оцінки внеску у формування генетичних структур чинників штучного і природного доборів у двох сільськогосподарських видів тварин. Показано переважаючий вплив еколого-географічних умов розведення на генетичну структуру у великої рогатої худоби (природний добір), а у овець - причетності до порід різного напрямку продуктивності (штучний добір). Показано, що підбір характеристик для виявлення породоспецифічних особливостей може бути виконаний на підставі різноманітних типів молекулярно-генетичних маркерів (структурні гени, анонімні фрагменти ДНК), а також таких фенів, як малюнок носогубного дзеркала.

Виявлено, що генетична структура спеціалізованих молочних порід в умовах техногенного забруднення, в поколіннях, зрушується в сторону, типову для порід комбінованого і м'ясного напрямків продуктивності. Отримані дані дозволяють пропонувати генетично обгрунтовані

рекомендації по збереженню та використанню порід, а також корегувати стратегію молочного скотарства в регіонах з різними рівнями техногенного забруднення.

Ключові слова: молекулярно-генетичні маркери, породи, екологічна адаптивність, генетична структура, техногенне забруднення, природний та штучний добір.

Тарасюк С.И. Популяционно-генетические основы экологической адаптивности сельскохозяйственных видов животных. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук по специальности 03.00.16. – экология. – Институт агроэкологии и биотехнологии УААН, Киев, 2002.

Наличие и механизмы формирования породоспецифичных особенностей генетических структур сельскохозяйственных видов животных, их зависимость от эколого-географических условий, до сих пор остаются практически неисследованными. В этой связи, с целью оценки наличия либо отсутствия таких зависимостей, в настоящей работе выполнен сравнительный анализ межпородной и внутripородной дифференциации генетических структур овец и крупного рогатого скота, воспроизводящихся в разных условиях искусственного (направления продуктивности) и естественного (эколого-географические условия) отборов с использованием различных типов молекулярно-генетических маркеров.

В результате сформулирована концепция и решена проблема оценки вклада в формирование генетических структур факторов искусственного и естественного отборов у двух сельскохозяйственных видов животных. Показано преимущественное влияние эколого-географических условий разведения на генетическую структуру у крупного рогатого скота (естественный отбор), а у овец - принадлежности к породам разного направления продуктивности (искусственный отбор).

У овец выявлены породоспецифичные особенности по представленности разных генотипов по различным генетико-биохимическим системам (из 31 исследованных), а также по анонимным фрагментам ДНК при использовании в качестве праймеров фрагментов микросателлитных локусов (ISSR-PCR). Получены данные о том, что генетические взаимоотношения между породами овец в большей степени ассоциированы с их принадлежностью к разным направлениям шерстной продуктивности (тонкорунные, полутонкорунные, грубошерстные породы), чем связаны со спецификой эколого-географических условий их выведения (горные породы или равнинные, юг Украины или Сибирь). Это позволило предположить ведущую роль искусственного отбора в формировании пород у овец. Выполненные исследования потомства межпородных скрещиваний показали, что действительно, изменения генетической структуры в процессе формирования новых типов и пород соответствуют направлению искусственной селекции в сторону “желательного” фенотипа родительской породы. Так, в частности, дифференциация генетической структуры помесных овец в связи с их подразделением на “желательный” и “нежелательный” фенотипы

перекрывает их различия, связанные с принадлежностью к первому или второму помесным поколениям, полученным от скрещиваний цигаев и остфризов.

Для того, чтобы выяснить, является ли такая связь между генетическими структурами пород и направлениями искусственного отбора типичной только для овец или имеется и у других видов сельскохозяйственных животных, рассмотрены генетические структуры пород крупного рогатого скота.

Оказалось, что генетические структуры аутохтонных и заводских пород крупного рогатого скота характеризуются специфическими особенностями распределения аллельных вариантов по различным типам молекулярно-генетических маркеров. Причем у аутохтонных пород крупного рогатого скота обнаруживаются породоспецифические особенности сочетаний редких аллельных вариантов, маркирующих, по-видимому, генные комплексы предкового генофонда, сохранение которого породоспецифично. Показано, что подбор характеристик для выявления породоспецифичных особенностей крупного рогатого скота может быть выполнен с учетом одновременной представленности аллельных вариантов по молекулярно-генетическим маркерам и таких фенотипов, как рисунок носогубного зеркала. Обнаружено также, что заводские породы существенно не отличаются от аутохтонных по доле полиморфных локусов, уровням средней гетерозиготности, однако у первых существенно больше размах величин генетических расстояний между внутривидовыми группами, чем у вторых, что позволяет прийти к предположению об относительно большей генетической консолидированности аутохтонных пород.

Анализ внутривидовой генетической дифференциации крупного рогатого скота в связи с эколого-географическими различиями воспроизводства животных (биотический фактор экологического стресса – инфицированность вирусом бычьего лейкоза; абиотические – техногенное загрязнение, эколого-географические различия) показал, что, в отличие от овец, средовые условия воспроизводства (естественный отбор) у крупного рогатого скота оказывают большее влияние, чем искусственный отбор (принадлежность животных к породам разного направления продуктивности – молочного, мясного и комбинированного). Обнаружено, что генетическая структура специализированных молочных пород, воспроизводящихся в условиях повышенного, высокого и катастрофического (зона отчуждения Чернобыльской АЭС) уровней техногенного загрязнения в поколениях сдвигается в сторону, типичную для пород комбинированного и мясного направлений продуктивности. Показано вовлечение в популяционно-генетические механизмы адаптации к средовым факторам у внутривидовых групп крупного рогатого скота повышения в поколениях частот встречаемости “быстрого” аллельного варианта по локусу рецептора к витамину Д (Gc A).

Обнаруженные межвидовые отличия по частотам встречаемости аллельных вариантов локуса рецептора к витамину Д (Gc A) и пуриннуклеозидфосфоорилазы (Nr H), совпадающие с

разной “чувствительностью” овец и крупного рогатого скота к воспроизводству в неблагоприятных условиях, позволяют предполагать непосредственное участие этих систем в популяционно-генетической адаптации животных.

Полученные данные о породоспецифических особенностях генетических структур пород овец и крупного рогатого скота позволяют предлагать генетически обоснованные рекомендации их сохранения и использования, а также в случае крупного рогатого скота - корректировать стратегию молочного скотоводства в регионах с разными уровнями техногенного загрязнения.

Ключевые слова: молекулярно-генетические маркеры, породы, экологическая адаптивность, генетическая структура, техногенное загрязнение, естественный и искусственный отбор.

Tarasjuk S.I. Population-genetic base of ecological adaptation of agricultural species of animals.- Manuscript.

Thesis on competition of a scientific degree of the doctor of agricultural sciences on a speciality 03.00.16. - ecology, Institute of Agriecology and Biotechnology UAAS, Kiev, 2001.

Existence and mechanisms of formation of breed specific traits of genetic structures in farm animals, their relation to ecology-geographical conditions, until now remain unknown.

In thesis is formulated and decided the problem of an evaluation of the contribution in formation of genetic structures of the factors artificial and natural selections in two farm species. The primary influence of ecology-geographical conditions of breeding to genetic structure of cattle (natural selection), and in sheep breeds – the belonging of breeds to different direction of productivity (artificial selection) were shown. It was demonstrated, that the choice of the characteristics for detection of breed specific traits could be made from various types of molecular-genetic markers (structural genes, anonymous DNA fragments), and also such phenes, as figures of nasal-lip mirror.

It was revealed, that the genetic structure of specialized dairy cattle breeds in generations in conditions of technogenic contamination was shifted to direction of typical genetic structure of breeds with combination and meat productivity. The obtained data allowed to propose the genetically justified recommendations of preservation and use of cattle and sheep breeds, and also to correct the strategy of dairy cattle breeding in regions with different levels of technogenic contamination.

Key words: molecular-genetic markers, breeds, ecological adaptation, genetic structure, technogenic contamination, natural and artificial selection