

УДК 636.32/38:575.1

М.М. ТОЙШИБЕКОВ, А.А. АБДУЛЛИНА, Р. ЖАПБАСОВ,
Р.Ж. ДЖУСУПОВА, А.Т. ЖОЛДЫБАЕВА.

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЯГНЯТ НЕКОТОРЫХ АБОРИГЕННЫХ ПОРОД ОВЕЦ КАЗАХСТАНА

(ТОО «Институт экспериментальной биологии им. Ф.М. Мухамедгалиева»)

Изучена генетическая структура ягнят 2-х аборигенных пород овец (едильбаевской и дегересской) по пяти системам белковых локусов крови. Осуществлен цитогенетический анализ подопытных ягнят на наличие хромосомных аберраций и геномных мутаций.

Используя современные методы иммуно- и цитогенетики, на основе изучения полиморфизма белков крови, частоты хромосомных нарушений и геномных мутаций у отдельных особей, становится возможным определить генетическую структуру популяций животных в процессе селекционной работы с ними.

Постоянный контроль за генетической структурой, частотой спонтанных и индуцированных мутаций в породе, популяции, стаде и на их основе, выявление животных-носителей аберраций хромосом позволяют разработать мероприятия по сохранению высокопродуктивных животных с ценным генотипом. Таким образом удается сохранить генофонд аборигенных пород животных и ускорить селекционный процесс по созданию высокопродуктивных стад с использованием этих ценных генотипов [1,2].

С целью изучения направленности и динамики внутрипопуляционных генетических процессов в современных популяциях аборигенных пород овец Казахстана, на основе изучения полиморфизма белков крови, исследованы особенности генетической структуры ягнят едильбаевской и дегересской пород овец.

Дана иммуногенетическая оценка ягнят овец по системам гемоглобина (Hb), трансферрина (Tf), альбумина (Al.), церулоплазмина (Cp), карбоангидразы (Ca). Показана возможность использования аллельных вариантов биохимических маркеров в качестве одного из слагаемых породной характеристики у овец.

Цитогенетическому анализу на наличие хромосомных аберраций и геномных мутаций под-

вергнуты ягнята чингизской и едильбаевской пород овец.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследований служили ягнята едильбаевской (n=12), дегересской (n=13) и чингизской пород (n=10) из коллекционных групп животных экспериментальной базы Института.

Исходным материалом для электрофоретического анализа белков и ферментов служили образцы крови (плазма, эритроциты) с использованием крахмально-гелевого электрофореза с последующим стандартным гистохимическим окрашиванием гелей. [3]

У ягнят едильбаевской и дегересской пород исследовали генетически детерминированный полиморфизм по следующим генетико-биохимическим системам: Hb, Tf, Ca, Cp, Al. Для каждого полиморфного локуса определены частоты индивидуальных аллелей и генотипов. Генетическое равновесие оценивали по формуле Харди-Вайнберга с использованием критерия Пирсона (χ^2). Математическую обработку полученных данных проводили по ранее разработанным методам. [4]

Препараты хромосом приготовлены из клеток культуры лейкоцитов периферической крови животных с использованием питательных сред (среда RFMJ – 1640 и среда 199), а также синхронизатора и стимулятора клеточного деления-фитогемаглютина (ФГА) и клеточного метастатика – колхицина для накопления К-митозов.

Изучение частоты встречаемости клеток с гиподиплоидными, гипердиплоидными и полиплоидными наборами хромосом, а также уровня кле-

ток с аберрациями хромосом проведено с использованием иммерсионной системы микроскопа Karl-Zeiss NU -2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения в генетической структуре вызывают иногда значительные колебания по отдельным локусам белков у различных популяций. В связи с этим необходимо описание показателей частот встречаемости аллелей и генотипов белков, характерных для данных животных, поскольку они являются своеобразными стандартами или моделями исследуемых популяций.

Анализ по электрофоретическим генетико-биохимическим системам у ягнят едильбаевской и дегересской пород выявил полиморфизм по локусам Hb, Tf, Ca, Cp, Al (таблица 1).

По локусу гемоглобина наибольшее распространение у ягнят едильбаевской и дегересской пород получил аллель Hb^B, что обусловило более высокую частоту встречаемости в этой породе генотипа Hb BB (50%).

Следует отметить, что у ягнят дегересской породы также отмечен небольшой избыток гомозиготных генотипов Hb BB (30,7%).

В локусе Al у изучаемых пород ягнят наблюдалась различия в распределении аллелей Al^A и Al^B. У ягнят как едильбаевской, так и дегересской пород преобладала частота аллеля Al^A (0,833, 0,731) и, соответственно, частота встречаемости гомозиготного генотипа Al AA (83,3% и 53,9%) (таблица 1).

По локусу карбоангидразы у исследуемых животных как едильбаевской, так и дегересской пород частота аллеля S почти в 2 раза превалировала над частотой аллеля F. Из гомозиготных генотипов у данных пород ягнят чаще встречались гомозиготы Ca SS, (50,0% и 46,2%, соответственно).

По системе церулоплазмина (Cp) генетические особенности ягнят дегересской породы выражались в широком распространении аллеля Cp^A (0,731) по сравнению с аллелем Cp^B (0,269) и, соответственно, гомозиготного генотипа Cp AA (61,7%). Гетерозиготный генотип Cp AB выявлялся со средней частотой (23,0%). С самой низкой частотой проявился гомозиготный генотип Cp BB (15,3%).

Среди ягнят едильбаевской породы высокую концентрацию имел гетерозиготный генотип Cp

AB (66,6%), низкую-гомозиготные генотипы Cp AA и Cp BB (16,7, 16,7, соответственно). При этом частота встречаемости аллелей Cp^A и Cp^B имела одинаковую величину (0,500).

Изучение генетической структуры ягнят едильбаевской и дегересской пород по концентрации аллелей Tf показало, что данные животные обладают четырьмя аллелями трансферринового локуса в гомо- и гетерозиготном сочетании. (таблица 1).

Вместе с тем наблюдались некоторые различия между изучаемыми породами. У ягнят едильбаевской породы встречалось достоверно больше медленных фракций трансферрина типа - Tf^C (0,416), а у ягнят дегересской породы – наоборот, быстрых, типа Tf^B (0,307). Это, вероятно, зависит от породных различий животных. Отсюда и высокая частота встречаемости гомозиготных генотипов Tf CC (16,6 %) у ягнят едильбаевской породы и Tf BB (15,3 %) у ягнят дегересской породы.

У исследуемых животных едильбаевской и дегересской пород также отмечена высокая частота встречаемости гетерозиготных генотипов BC (16,6%- 23,1%), соответственно. Среди исследованных пород ягнят распределение остальных маркеров трансферринового локуса более равномерное и явного преобладания того или иного варианта не наблюдалось.

Таким образом, у ягнят едильбаевской и дегересской пород установлена генетическая структура по полиморфизму Hb, Tf, Al, Cp, Ca крови. Исследуемые породы ягнят обладают своим спектром частот встречаемости вариантов полиморфных белков, который объективно отражает состояние структуры популяции. Следовательно, генетически детерминируемый полиморфизм данных генетических систем крови можно использовать в качестве биохимического маркера, характеризующего внутривидовую (межпородную) изменчивость и специфику селекционно-племенной работы с конкретной породой.

Результаты изучения цитогенетического статуса новорожденных ягнят чингизской и едильбаевской пород представлены в таблице 2.

Анализ статистических цитогенетических материалов таблицы показывает, что минимальный уровень гиподиплоидных клеток у ягнят едильбаевской породы составляет 14,16%, тогда как у ягненка № 03841 этой же породы при

Таблица 1. Частота аллелей и встречаемость генотипов по 5 полиморфным белкам у ягнят (N – число животных)

Порода ягнят	N	Гемоглобин					Альбумин					Карбоангидраза					Церулоплазмин				
		Частота аллелей		Встречаемость генотипов %			Частота аллелей		Встречаемость генотипов %			Частота аллелей		Встречаемость генотипов %			Частота аллелей		Встречаемость генотипов %		
		Hb ^A	Hb ^B	AA	BB	AB	Al ^A	Al ^B	AA	BB	AB	Ca ^S	Ca ^F	SS	FF	SF	Cp ^A	Cp ^B	AA	BB	AB
Едильбаевская	12	0,333	0,666	16,6	50,0	33,4	0,833	0,166	83,3	16,6	-	0,625	0,375	50,0	25,0	25,0	0,500	0,500	16,7	16,7	66,6
Дегересская	13	0,462	0,538	23,2	30,7	46,1	0,731	0,269	53,9	7,6	38,5	0,653	0,347	46,2	15,3	38,5	0,731	0,269	16,7	15,3	23,0

Продолжение таблицы 1

Трансферрин																
Порода	Число ж-х в группе	Частота аллелей				Встречаемость генотипов %										
Едильбаевская	12	Tf ^A	Tf ^B	Tf ^C	Tf ^D	AA	BB	ДД	CC	AB	ВД	BC	AC	DC	AD	
		0,168	0,250	0,416	0,209	8,4	8,4	8,4	16,6	16,6	8,4	16,6	-	16,6	-	
Дегересская	13	0,231	0,307	0,231	0,231	7,7	15,3	7,7	7,7	-	7,7	23,1	7,7	-	23,1	

Таблица 2. Цитогенетические характеристики новорожденных ягнят аборигенных пород овец

№ ягненка	Пол, порода	Изучено метафаз (см. 1)	Из них, в %				Уровень цитогенетической нестабильности в %	
			Гипо-диплоидия	Гипер-диплоидия	Аберрация хромосом	Поли-пloidия	A ²	B ³
3316	♂Ч	352 / 747	17,61	0,85	0,56	1,61	20,63	3,02
00602	♂Ч	471 / 653	15,71	0,21	-	0,77	19,69	0,98
03509	♀Ч	580 / 895	18,44	0,34	0,52	0,22	19,52	1,08
05216	♀Ч	243 / 406	17,69	-	-	0,98	18,67	0,98
Всего	Ч	1646 / 2701	17,36±0,6	0,35±0,18	0,27±0,16	0,89±0,28	19,62±0,4	1,51±0,5
03357	♂В	419 / 981	18,85	0,48	0,72	1,73	21,78	3,23
09963	♂В	381 / 505	19,94	0,26	0,53	0,40	21,13	1,19
03841	♂В	405 / 812	20,74	0,25	0,74	0,37	22,1	1,36
05767	♂В	593 / 950	14,16	0,34	1,35	1,05	16,9	2,74
03058	♀В	388 / 819	16,75	-	0,77	0,85	18,37	1,62
05825	♀В	297 / 576	19,19	-	0,34	1,38	20,91	1,72
Всего	В	2483 / 4643	18,27±0,98	0,22±0,07	0,74±0,16	0,96±0,22	20,19±0,85	1,97±0,33
Итого		4129 / 7344	17,90±0,63	0,27±0,08	0,55±0,12	0,94±0,17	19,97±0,52	1,79±0,28

Ч - чингизская порода

В - едильбаевская порода

1 - в числителе - число изученных метафазных пластинок для определения частоты встречаемости клеток с гиподиплоидным, гипердиплоидным наборами хромосом и с аберрацией хромосом, а в знаменателе - для изучения уровня клеток с полиплоидным набором хромосом.

2 - общий уровень цитогенетической нестабильности (гиподиплоидия + гипердиплоидия + полиплоидия + аберрация хромосом)

3 - уровень цитогенетической нестабильности без учета показателя гиподиплоидии.

цитогенетическом анализе 405 метафазных пластинок, 20,74% клеток были с числом хромосом меньше чем 54.

По данному цитогенетическому показателю обследованные ягната двух пород отличаются друг от друга незначительно ($17,36 \pm 0,60\%$ у чингизской породы ягнят и $18,27 \pm 0,98\%$ у едильбаевских ягнят).

Частота встречаемости клеток с гипердиплоидным набором хромосом у изученных едильбаевских ягнят колеблется в пределах от 0- до 0,48%. У ягненка (№3316) чингизской породы, из проанализированных 352 метафазных пластинок, 0,85% были с гипердиплоидным набором хромосом. На общем фоне, когда из изученных 388 метафазных клеток (ягненок №03058) не обнаружена ни одна клетка с гипердиплоидным набором хромосом, показатель ягненка №3316 можно считать высоким. Коэффициент вариации частоты встречаемости гипердиплоидных клеток у ягнят высокий и, в среднем, составляет $C_v = 95,59\%$, тогда как для гиподиплоидии $C_v = 11,06\%$.

Цитогенетические показатели частоты встречаемости клеток с хромосомными аберрациями у обследованных двух пород ягнят несколько отличается друг от друга. Например, при анализе 1646 метафазных клеток у ягнят чингизской породы средний уровень клеток с аберрацией хромосом составил $0,27 \pm 0,16\%$; ($C_v = 15,62\%$), тогда как анализ 2483 метафазных клеток едильбаевских ягнят показал, что данный цитогенетический показатель увеличился до $0,74 \pm 0,16\%$ ($C_v = 45,82\%$). Следует отметить, что у двух ягнят чингизской породы (№00602 и 05216), среди проанализированных, соответственно, 471 и 243 метафазных клеток, не идентифицированы клетки с аберрациями хромосом, тогда как у всех едильбаевских ягнят, с разной частотой, обнаружены клетки с хромосомными нарушениями.

У ягнят идентифицированы аберрации в виде делеции одной хроматиды, разрыва в районе центромеры в метацентрических хромосомах, Робертсоновской транслокации двух акроцентрических хромосом.

С целью изучения частоты полиплоидных клеток у ягнят были изучены 7344 метафазных пластинок, из которых, в среднем, $0,94 \pm 0,17\%$ были с полиплоидным набором хромосом, в основном, тетраплоиды. У некоторых ягнят, напри-

мер, у баранчика № 03357 едильбаевской породы около 1,73% (17 клеток) были с тетраплоидным набором хромосом.

Общий уровень цитогенетической нестабильности в соматических клетках обследованных ягнят едильбаевской породы находится в пределах от 16,9% (ягненок №05767) до 22,1% (ягненок № 03841). В то же время уровень цитогенетической нестабильности у ягнят, с учетом частоты встречаемости гипердиплоидных, полиплоидных клеток и клеток с аберрацией хромосом, меняется в пределах от 0,98% (у ягненка чингизской породы) до 3,23% (у ягненка едильбаевской породы), т.е в трехкратном значении.

Исходя из этих данных, можно отметить, что отдельные животные характеризуются своим цитогенетическим статусом. Следовательно, цитогенетическая идентификация животных позволяет отобрать среди них особей с низким уровнем цитогенетической нестабильности генома. У коров с повышенным уровнем цитогенетических аномалий установлено снижение их воспроизводительной способности [5]. Высокий процент цитогенетической нестабильности в соматических клетках может также обуславливать снижение молочной продуктивности коров [6].

Учет динамики спонтанного мутагенеза у животных с идентификацией хромосомных аберраций и геномных мутаций является доступной современной генетической методикой, которая позволяет проследить направление изменений в структуре пород под воздействием различных условий отбора [7]. Наряду с этим методы иммуногенетической оценки животных по генотипу позволяют сохранить в популяции уникальные аллельные сочетания, что повышает эффективность ведения селекционной работы.

ЛИТЕРАТУРА

1 Мусеева И.Г., Уханов С.В., Столповский Ю.А., Султимова Г.Е., Каитманов С.Н. Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы. //Животноводство России. М: Наука. 2006. 469 с.

2 Трушников В.А., Исаев И.А., Конорев П.В. Влияние хромосомных аберраций на продуктивность крупного рогатого скота. // Проблемы стабильности и развития с/х производства Сибири, Монголии и Казахстана в 21 веке: Тез. докл. Межд. научн. практ. конфер. Новосибирск, 1999, с. 134-135.

3 Harris H., Hopkins on D.A. Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics Amsterdam North-Holland Publ. Comp., 1976. p680.

4 Животовский Л.А., Машуров А.М. Методические рекомендации по статистическому анализу иммуногенетических данных для использования в селекции животных. Дубровицы, 1974.

5 Бакай Ф.Р. и др. Кариотипическая изменчивость у коров различных генотипов. // Современные проблемы зоотехники и агробизнеса. Сборник научных трудов. Ч 1. Москва. 2001 а., с. 16-20.

6 Бакай Ф.Р. и др. Неконституциональная кариотипическая изменчивость у коров английской породы. // Современные проблемы зоотехники и агробизнеса. Сборник научных трудов. Москва. 2003 а., с. 27-30.

7 Бакай Ф.Р., Семенов А.С. Анеуплоидия и полипloidия в онтогенезе черно-пестрого скота. // Современные проблемы зоотехники и агробизнеса. Сб. Москва, 2003 б. С. 7-9.

Резюме

Қазақстанның жергілікті (аборигенді) қой тұқымдарының популяцияларындағы генетикалық процесстердің бағыты мен езгеру деңгейі еділбай және дегерес тұқымды қозылардың қан сарысуындағы ағзаларды зерттеу арқылы сипатталды. Зерттелген қозыларда қанының иммуногенетикалық маркерлері, 5 полиморфты генетикалық

және биохимиялық жүйелердің (гемоглобин- Hb , карбоангидраза -Са, трансферрин - Tf, церулоплазмин - Ср , альбумин -А1) езгергені анықталды.

Еділбай және шыныңыс тұқымды қозыларға цитогенетикалық талдау жүргізгенде, шыныңыс тұқымды қозылардың соматикалық клеткаларындағы хромосомалардың аберрация мөлшері $0,27 \pm 0,16\%$ ($Cv = 16\%$) болса, ал еділбай тұқымды қозыларда бұл цитогенетикалық сипаттама ($0,74 \pm 0,16\%$) ($Cv = 46\%$) болды.

Summary

Genetical structure of Edilbay and Degheres breeds lambs was studied basing on blood proteins polymorphism to investigate the direction and dynamics of the intapopulation genetical processes in these aboriginal Kazakhstan breeds.

Wide range of variability of blood immunological markers was detected and the specificity of 5 polymorphic biochemical genetical markers: haemoglobin (Hb), carboanhydrase (Ca), transferrin (Tf), ceruloplasmin (Cp), albumin (Al).

Cytogenetical analysis of chromosome aberrations and genomic mutations frequency in the lambs of Edilbay and Chingis breeds was undertaken. Mean frequency of chromosome aberrations in Chingis breed was $0.27 \pm 0.16\%$ ($Cv = 0.16\%$) and in Edilbay breed was $0.74 \pm 0.16\%$ ($Cv = 46\%$).