Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիա
Национальная Академия Наук Армении
National Academy of Sciences of Armenia

Հայաստանի Կենսաբանական Հանդես
Биологический Журнал Армении
Biological Journal of Armenia

•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •Экспериментальные и теоретические статьи•
•Experimental and theoretical articles•

Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(66), 2014

ՀԱՅԱՍՏԱՆՈՒՄ ԲՈՒԾՎՈՂ ԷԴԻԼԲԱԵՎՅԱՆ ՑԵՂԻ ՈՉԽԱՐՆԵՐԻ ԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐ ԸՍՏ ՏՐԱՆՍՖԵՐԻՆԻ ԵՎ ՑԵՐՈՒԼՈՊԼԱԶՄԻՆԻ ՄԱՐԿԵՐՆԵՐԻ

ՅՈՒ.Գ.ՄԱՐՄԱՐՅԱՆ, Մ.Վ.ԲԱԴԱԼՅԱՆ, Զ.Ս.ՓԱՄԲՈՒԽՉՅԱՆ, Լ.Գ.ՏԵՐ-ԻՍԱՀԱԿՅԱՆ

Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարան
badalyan.manvel@mail.ru

Ուսումնասիրվել են Ռուսաստանի Դաշնությունից Հայաստան ներմուծված էդիլբաևյան ցեղի ոչխարների ալելոտիպերն ու գենոտիպերը ըստ տրանսֆերինի (Tf) և ցերուլոպլազմինի (Cp) գենետիկական մարկերների:

Տրանսֆերին – ցերուլոպլազմին – լոկուս – ալել – գենոտիպ

Изучалось строение аллелотипов и генотипов по генетическим маркерам трансферрина (Tf) и церулоплазмина (Cp) у овец эдилбаевской породы, завезенных в Армению из Российской Федерации.

Трансферрин – церулоплазмин – локус – аллель – генотип

The structure of allelotypes and genotypes on the basis of genetic markers of transferrin (Tf) and ceruloplasmin (Cp) of Edilbay breed of sheep delivered to Armenia from the Russian Federation was studied.

Transferrin – ceruloplasmin – locus – allele – genotype

Անասնաբուծության վարման արդյունավետությունը մեծ մասամբ պայմանավորված է ճյուղում տարվող բուծման և տոհմաընտրասերման աշխատանքներով, որոնց մոտեցումները գիտության զարգացմանը համահունչ փոխվում և կատարելագործվում են:

Միևնույն ժամանակ ընտրասերման գործընթացի կանխորոշումը և առավելագույնս կառավարելի դարձնելը կախված է նաև պոպուլյացիաների գենետիկական կառուցվածքի, առանձին լոկուսների և ալելների ու տնտեսական օգտակար հատկանիշների միջև առկա կապի վերաբերյալ տեղեկացվածության աստիճանից:

Վերջին ժամանակներս գյուղատնտեսական կենդանիների ընտրասերման աշխատանքներում կիրառվում են նոր գենետիկական մեթոդներ, որոնց հիմքում ընկած են պոլիմորֆ գենետիկական դետերմինացիայի համակարգերը (արյան խմբեր, պոլիմորֆ սպիտակուցներ, սատելիտային ԴՆԹ), որոնք համարվում են գենետիկորեն պայմանավորված հատկանիշներ [7]:

Նշված պոլիմորֆ համակարգերից սպիտակուցների կենսաքիմիական բազմազանությունը մի շարք առանձնահատկությունների շնորհիվ համարվում է շատ արդիական:

Բազմաթիվ ուսումնասիրություններից պարզվել է, որ գյուղատնտեսական կենդանիների սպիտակուցների կեսից ավելին պոլիմորֆ է, կամ այն սինթեզող գենն ունի երկու կամ ավելի ալել [1]:

Հայտնի է, որ իզոֆերմենտները ստացել են «կառուցվածքային գեների կենսաքիմիական մարկերներ» անվանումը, որոնց բազմակողմանի ուսումնասիրությունը հիմք կհանդիսանա Հայաստանում մոլեկուլային կամ մարկերային ընտրասերման զարգացման համար:

Նյութ և մեթոդ: Փորձնական ուսումնասիրությունները կատարվել են 2013թ. Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարանի գենետիկայի և կենսատեխնոլոգիայի լաբորատորիայում: Արյան փորձանմուշները վերցվել են «Արա Լեռ» ոչխարաբուծական տոհմային տնտեսությունում բուծվող 2-3 տարեկան 40 գլուխ էդիլբաևյան ցեղի ոչխարների լծային երակից, հել ակտիվատոր պարունակող վակումային փորձանոթների միջոցով:

Մակարդված արյունը ենթարկվել է ցենտրիֆուգման (5 րոպե, 6000 պ/րոպե)՝ արյան շիճուկն անջատելու նպատակով:

Էլեկտրոֆորեզի միջոցով ուսումնասիրվել է ոչխարների արյան շիճուկի Tf և Cp սպիտակուցների բազմաձևությունը:

Էլեկտրոֆրեզը կատարվել է Դևիսի մեթոդով [3], Biometra ֆիրմայի «Multigel-long» ֆորեզի ապարատով, 10%-անոց պոլիակրիլամիդային հելի վրա (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Արյան շիճուկի Tf և Cp սպիտակուցների էլեկտրոֆորեզի անհրաժեշտ պայմանները

Սպիտակուցը	Հելը , %	Հելի երկարությունը, սմ	Նմուշի տիտրը	Բուֆերը		Հոսանքի լարումը, V	Ֆորեզի տևողությունը, ժամ
				Հելային	Էլեկտրոդային		
Tf	10	12	1:2	0,05M տրիս HCL pH 8,8	0,016 M տրիս գլիցին pH 8,7	280	3
Cp	10	12	1:1	0,18 M տրիս HCL pH 8,8	0,016 M տրիս բորատ pH 9,0	290	2,5

Ֆորեզի ավարտից հետո հելը 60 րոպե տևողությամբ ֆիքսվել է էթանոլ, քացախաթթու, թորած ջուր (40:10:60) լուծույթում, որից հետո 30-60 րոպե ներկվել է կումասի G-250 ներկով, այնուհետև 3 անգամ լվացվել լվացող բուֆերով (քացախաթթվի 10%-անոց լուծույթ):

Ֆորեգրամի արդյունքները վերլուծվել են համապատասխան բանաձևերի միջոցով [5]: Գենոտիպերի և ալելների հաճախականությունը որոշվել է հետևյալ բանաձևով [3]՝

$$P_i = \frac{n_i}{N},$$

որտեղ՝ P_i – $ն_i$ ալելի հաճախականությունն է,

n_i – ը տվյալ ալելը կրող կենդանիների թիվը,

N – ը հետազոտվող կենդանիների ընդհանուր թիվը:

Սպիտակուցների բազմաձևության ցուցանիշներով հոմոզիգոտության աստիճանը որոշվել է Հելդերմանի բանաձևով [5].

$$SH = \sqrt{\frac{\sum (H_1 - H)^2}{n}},$$

որտեղ՝ SH-ը մի քանի լոկուսներով հոմոզիգոտության միջին ցուցանիշն է,

H-ը ուսումնասիրվող հոմոզիգոտության միջին ցուցանիշն է,

H_1-ը յուրաքանչյուր լոկուսի հոմոզիգոտության միջին աստիճան է

n-ը ուսումնասիրվող լոկուսների քանակն է:

Առանձին լոկուսների համար գենոտիպերի հոմոզիգոտության բաժինը որոշվել է հետազոտվող կենդանիների ընդհանուր թվի սովորական համամասնության սկզբունքով:

Սպիտակուցի մոլեկուլի հատվածների հարաբերական շարժողականությունը (RF) որոշվել է gelanalyzer 2010a համակարգչային ծրագրի միջոցով:

Արդյունքներ և քննարկում: Կենսաքիմիական գենետիկայի կարևորագույն առանձնահատկությունը տարբեր ցեղի պատկանող կենդանիների հոմոլոգ լոկուսների բնութագրումն է, ինչը հնարավորություն է տալիս ոչ միայն պարզաբանել առանձին կարգաբանական խմբերի գենետիկական նմանությունը, այլ նաև բացահայտել տվյալ բնագավառում առկա հիմնախնդիրները, գնահատել գենետիկական պոտենցիալը և այլն:

Մասնագիտական գրական աղբյուրները վկայում են, որ գոյություն ունի դրական համահարաբերակցական կապ սպիտակուցի տարբեր լոկուսների, ալելների հաճախականության, հոմոզիգոտ և հետերոզիգոտ վիճակների ու տնտեսական օգտակար հատկանիշների միջև:

Այսպես, օրինակ, TfAC-CpBB գենոտիպով կենդանիներն ունեն բարձր սպանդային ելք և 1-ին կարգի միս TfCC-CpBB և TfAC-CpAB գենոտիպերով կենդանիների համեմատությամբ [6]: Իսկ TfAB գենոտիպերով ոչխարները ցուցաբերում են ավելի բարձր դիմադրողականություն դաբաղի նկատմամբ, քան հոմոզիգոտ գենոտիպերով կենդանիները [8], իսկ պրեկոս ցեղի TfBC գենոտիպերով մաքիներն աչքի են ընկնում բազմապտղությամբ և մատղաշի բարձր պահպանությամբ [4]:

Էլեկտրոֆորեզի միջոցով մեր կողմից ուսումնասիրվել է Հայաստան ներմուծված էդիլբևայան ցեղի ոչխարների արյան շիճուկի Tf և Cp սպիտակուցների բազմաձևությունը: Ոչխարների մոտ տրանսֆերինը կարգավորվում է աուտոսոմ լոկուսի հինգ կոդոմինանտ ալելներով [6]:

Ըստ որոշ հետազոտողների [2], էդիլբևայան ցեղի ոչխարների արյան շիճուկի տրանսֆերինի լոկուսը ընդգրկել է Tf A, B, C, D, E ալելները, որոնցից ամենաբարձր հաճախականությունն են ունեցել TfC (0,59) և TfD (0,29) ալելները:

Գենոտիպերի հնարավոր 15 տարբերակներից բացահայտվել է 9՝ Tf AC, AD, BB, BC, BD, CC, CD, CE, DD: Լոկուսի հոմոզիգոտության աստիճանը կազմել է 54,07% [1]: Ուշագրավ արդյունքներ են ստացվել Հայաստանում բուծվող կորիդելի, հայկական կիսակոպտաբուրդ և ռոմանովյան ցեղի ոչխարների Tf և Cp սպիտակուցների ուսումնասիրության ժամանակ: Պարզվել է, որ Tf լոկուսը կորիդելի և հայկական կիսակոպտաբուրդ ցեղերի մոտ կազմված է Tf A, B, իսկ ռոմանովյան ցեղի մոտ Tf A, B, C ալելներից: Լոկուսի հոմոզիգոտության աստիճանը համապատասխանաբար 66, 32,1 և 10%: Cp լոկուսը ուսումնասիրված ոչխարների բոլոր երեք ցեղերի մոտ կազմված է եղել Cp A և B ալելներից, որոնցից ամենաբարձր հաճախականությունը արձանագրվել է կիսակոպտաբուրդ ցեղի մոտ (0,87): Մեր ուսումնասիրությունների ժամանակ բացահայտվել է, որ Tf լոկուսը պոլիմորֆ է, կազմված Tf A, B, C, D ալելներից, որոնց հաճախականությունը համապատասխանաբար հավասար է 0,33, 0,40, 0,20 և 0,07-ի (աղ. 2):

Աղյուսակ 2. Էդիլբևայան ցեղի ոչխարների գենետիկական կառուցվածքն ըստ Tf և Cp լոկուսների

Լոկուսը	n	Հաճախականությունը, Pi																Հոմոզիգոտության աստիճանը	
		Գենոտիպերը, %												Ալելները					
		AA	AB	AC	AD	BB	BC	BD	CC	CB	CD	CE	DD	A	B	C	D	ըստ առանձին լոկուսների	Ըստ Tf և Cp լոկուսների
Tf	40	-	-	22,5	10,0	15,0	10,0	15,0	5,0	-	12,5	2,5	7,5	0,33	0,40	0,20	0,07	27,5	31,8
Cp	40	20,0	22,5	-	-	12,5	17,5	-	12,5	2,50	12,5	-	-	0,43	0,30	0,28	-	45,0	

Ակնհայտ է, որ ամենաբարձր հաճախականությամբ առանձնանում են Tf B և Tf A, իսկ ամենացածրը՝ Tf D ալելները: Գենոտիպերի հնարավոր 12 տարբերակներից էդիլբևայան ցեղի ոչխարների ուսումնասիրվող խմբում բացահայտվել են 8-ը՝ Tf AC, AD, BB, BC, BD, CC, CB, CD և CE, ընդ որում TfA ալելը դրսևորվում է երկու AC (22,5%) և AD(10%) հետերոզիգոտ գենոտիպերով: Ինչ վերաբերվում է TfB ալելին, պետք է նշել, որ այն ձևավորել է երեք՝ BB (15 %) հոմոզիգոտ և BC (10 %) ու BD (15 %) հետերոզիգոտ գենոտիպերը: Tf լոկուսի TfC ալելը նույնպես բնութագրվում է երեք՝ CC (5,0%) հոմոզիգոտ, CD (12,5%) և CE (2,5%) հետերոզիգոտ գենոտիպերով, ինչը չենք կարող ասել TfD ալելի վերաբերյալ, քանի որ այն ձևավորում է ընդամենը մեկ հոմոզիգոտ՝

TfDD (7,5%) գենոտիպ: Լոկուսի հոմոզիգոտության աստիճանը բավականին ցածր է և կազմում է 27,5%:

Cp սպիտակուցը եռալել համակարգ է, կազմված CpA արագ, CpC դանդաղ և CpB միջին արագությամբ միգրացվող ալելներից: Հոմոզիգոտ ձևերը ֆորեգրամի վրա առաջացնում են մեկ, իսկ հետերոզիգոտները՝ երկու գիծ:

Մեր ուսումնասիրությունների ընթացքում պարզվեց, որ էդիլբաևյան ցեղի ոչխարների մոտ Cp լոկուսը նույնպես պոլիմորֆ է, կազմված մինչ այժմ գիտությանը հայտնի բոլոր երեք՝ CpA, CpB, CpC ալելներից, որոնց հաճախականությունը համապատասխանաբար հավասար է 0,43, 0,30 և 0,28 (աղ. 2): Cp լոկուսը ընդգրկում է 7 գենոտիպեր, ընդ որում CpA ալելը ձևավորվել է 2՝ CpAA (20%) հոմոզիգոտ և CpAB (22,5%) հետերոզիգոտ, CpB ալելը 2՝ CpBB (15%) հոմոզիգոտ, CpBC (17,5%) հետերոզիգոտ, իսկ CpC ալելը 3՝ CpCC (12,5%) հոմոզիգոտ, CpCB (2,50%) և CpCD (12,5%) հետերոզիգոտ գենոտիպերը: Աղյուսակի տվյալների համաձայն, ի տարբերություն Tf-ի Cp-ի լոկուսը ձևավորող բոլոր երեք ալելները դրսևորվում են ինչպես հոմոզիգոտ, այնպես էլ հետերոզիգոտ գենոտիպերով, ինչի արդյունքում լոկուսի հոմոզիգոտության աստիճանը կազմում է 45%՝ կրկնակի գերազանցելով Tf-ի լոկուսի նույն ցուցանիշին: Երկու լոկուսների ցուցանիշներով հոմոզիգոտության աստիճանը կազմել է 31,8%:

Գյուղատնտեսական կենդանիների տարբեր ցեղերի թեստավորման, ծագումնաբանության, միջցեղային տրամախաչումների ժամանակ, մասնավոր հետերոզիսի աստիճանը որոշելու նպատակով, որպես գենետիկական մարկերներ օգտագործվում են էլեկտրոֆորեզի ժամանակ սպիտակուցի մոլեկուլի հատվածների հարաբերական շարժողականությունը (RF), ինչը ժառանգական հատկանիշ է և բնութագրվում է ամբողջական թվերով 0-ից 1-ի սահմաններում: Աղ.3 տվյալներից երևում է, որ Tf լոկուսի A, B, C, D ալելների հարաբերական շարժողականությունը (RF) համապատասխանաբար հավասար է 0,934; 0,752; 0,428; 0,136, իսկ Cp լոկուսի A, B, C ալելների դեպքում՝ 0,866; 0,439; 0,118:

Աղյուսակ 3. Ալելների հարաբերական շարժողականությունը

Լոկուսը	Ալելները	Ալելների հարաբերական շարժողականությունը (RF)
Tf	A	0,934
	B	0,752
	C	0,428
	D	0,136
Cp	A	0,866
	B	0,439
	C	0.118

Նշված թվային արժեքները որպես գենետիկական մարկերներ կարող են ծառայել անհայտ ծագման, խառը գենոտիպերով պոպուլյացիաներում էդիլբաևյան ցեղի ոչխարների մասնակցությունը նույնականացնելու ժամանակ:

Էդիլբաևյան ցեղի ոչխարների արյան շիճուկի Tf և Cp սպիտակուցների հետազոտություններից ստացված տվյալների վերլուծության հիման վրա արվել են հետևյալ եզրակացությունները:

Ոչխարների փորձնական խմբերում Tf լոկուսը պոլիմորֆ է, կազմված Tf A, B, C և D ալելներից, որոնցից ամենաբարձր հաճախականությամբ առանձնանում է TfB (0,40), իսկ ամենացածր TfD (0,07) ալելը; Tf լոկուսում գենոտիպերի հնարավոր 12 տարբերակներից բացահայտվել է 8-ը Tf AC, AD, BB, BC, BC, CC, CB, CD, CE, որոնցից TfAC գենոտիպի հանդիպման հաճախականությունը ամենաբարձրն է (22,5%): Լոկուսի հոմոզիգոտության աստիճանը կազմել է 27,5%:

Ոչխարների փորձնական խմբում Cp լոկուսը նույնպես պոլիմորֆ է, կազմված Cp A, B, C ալելներից, որոնք դրսևորվում են 7 գենոտիպերով՝ Cp AA, AB, BB, BC, CC, CB, CD: Ընդ որում CpAB գենոտիպը հանդիպում է ուսումնասիրված կենդանիների 22,5%, իսկ CpCB-ն ընդամենը 2,5%-ի մոտ: Լոկուսի հոմոզիգոտության աստիճանը կազմել է 45,0%: Tf լոկուսի A, B, C, D ալելների հարաբերական շարժողականությունը (RF) համապատասխանաբար հավասար է 0,934; 0,752; 0,428; 0,136, իսկ Cp լոկուսի A, B, C ալել-

ների դեպքում՝ 0,866; 0,439; 0,118: Նշված թվային արժեքներն որպես գենետիկական մարկերներ կարող են ծառայել անհայտ ծագման, խառը գենոտիպերով պոպուլյացիաներում էդիլբաևյան ցեղի ոչխարների մասնակցությունը նույնականացնելու նպատակով:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Амбросьева Е.А.* Полиморфизм белков крови сельскохозяйственных животных и эффективность использования его в селекционном процессе. Дисс. д.б.н., Лесные поляны. с. 315, 2005.
2. *Глазко В.И., Стакан Г.А., Серов О.Л.* Исследование генетической структуры популяций чистопородных и кроссбредных животных. Вопросы теоретической и прикладной генетики. Новосибирск: изд.ИЦиГ.- С. 30-31, 1976.
3. *Глазко В. И.* Биохимическая генетика овец. Новосибирск, Наука, 167 с., 1985.
4. *Лазовский А.А.,* Воспроизводительная способность овцематок в зависимости от разных типов уровня калия, гемоглобина и трансферрина. Научные основы развития животноводства в БССР, 5. с.90-92, 1975.
5. *Меркурьева Е.К., Абрамова З.Б., Бакай А. В. и др.* Генетика. М., Агропромиздат, 446 с., 1991.
6. *Садыкулов Т.С., Ким Г.Л.* Возможность использования некоторых полиморфных систем крови в селекции дегерских овец. Вест. с.-х. науки Казахстана, 8. с. 52-54, 1985.
7. *Grisart, B., Coppieters, W., Farnir, F., Karim, L., Ford, C., Berzi, P., Cambisano, N., Mni, M., Reid, S., Simon, P., Spelman, R., Georges, M. & Snell, R.* Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. Genome Research, 12, 222-231, 2002.
8. *Lipecke C, Efner T.* Zamartose zelaza bialka ogolnego i jego frakcji w surowicy krwi owies w zaleznosci od typu transferryn. Biul. LIN Biol., *19,* 2, p.41-46, 1977.

Ստացվել է 29.05.2014