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, 2(70), 2018

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՄՈՒՖԼՈՆԻ, ԿՈՐԻԴԵԼԻ ՏԻՊԻ ՈՉԽԱՐՆԵՐԻ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՀԻԲՐԻԴՆԵՐԻ ԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ ԸՍՏ ՄԻԿՐՈՍԱՏԵԼԻՏԱՅԻՆ ԴՆԹ-Ի ՈՐՈՇ ԼՈԿՈՒՍՆԵՐԻ

Մ.Վ. ԲԱԴԱԼՅԱՆ, Գ.ՅՈՒ. ՄԱՐՄԱՐՅԱՆ, ՅՈՒ.Գ. ՄԱՐՄԱՐՅԱՆ

Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարան
badalyan.manvel@mail.ru

Ուսումնասիրվել են Հայկական Մուֆլոնի, Կորիդելի տիպի ոչխարների և դրանց տարբեր սերունդների հիբրիդների միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի հետևյալ լոկուսները՝ BM0757, BM1314, BM4621, BM6506, BM6526, INRA023, BM8125, որպես գենետիկական մարկերներ ուսումնասիրվող տեսակների գենետիկական բնութագիրը հստակեցնելու և ոչխարների ու այծերի ընտրասերման աշխատանքներում օգտագործելու նպատակով:

Միկրոսատելիտային ԴՆԹ – լոկուս – ալել – ինբրիդինգ – հոմոզիգոտություն

Изучались локусы (BM0757, BM1314, BM4621, BM6506, BM6526, INRA023, BM8125) микросателитных ДНК Армянского Муфлона, овец типа Корридел, а также у их гибридов разных поколений. Результаты исследований используются в качестве генетических маркеров у изучаемых видов для уточнения генетической характеристики в процессе работ племенной селекции овец и коз.

Микросателитная ДНК – локус – аллель – инбридинг – гомозиготность

During current research following loci (BM0757, BM1314, BM4621, BM6506, BM6526, INRA023, BM8125) of microsatellite DNA of Armenian mouflon, Corriedale sheep and their hybrids was carried out. As a genetic markers of studied species, these loci can be used for clarifying the genetic characteristics and for selection process of sheep and goats.

Microsatellite DNA – loci – allele – inbriding – homozygosity

Գյուղատնտեսական կենդանիների և դրանց վայրի ազգակիցների գենետիկական ներուժի արդյունավետ օգտագործումը, սելեկցիոն գործընթացի կանխորոշումը և առավելագույնս կառավարելի դարձնելը, ինֆեկցիոն հիվանդությունների նկատմամբ բնական դիմադրողականության բարձրացումը պայմանավորված է տարբեր պոպուլյացիաների գենետիկական կառուցվածքի, առանձին լոկուսների և ալելների ու տնտեսական օգտակար հատկանիշների միջև առկա կապի վերաբերյալ տեղեկացվածության աստիճանից:

Հայաստանը, լինելով հարուստ և խոցելի կենսաբազմազանության թեժ կետերից մեկը, համարվում է մի շարք արժեքավոր և էնդեմիկ բուսատեսակների և կենդանիների հայրենիքը: Առանձնակի ուշադրության է արժանի Հայկական Մուֆլոնը (Ovis orientalis gmelinii (Blyth, 1841), որի մի շարք արժեքավոր կենսաբանական հատկանիշների օգտագործման նպատակով դեռևս անցած հարյուրամյակի կեսերին հայ գիտնականների կողմից իրականացվել է հիբրիդացման որոշ աշխատանքներ Հայաստանում ստացված Կորիդելի տիպի ոչխարների հետ: Սույն աշխատանքում ամփոփված են նշված տիպերի որոշ գենետիկական բնութագրերը ըստ միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի մի քանի լոկուսների: Հարկ է նշել, որ գյուղատնտեսական կենդանիների գենոտիպավորման առումով նմանատիպ աշխատանքներ Հայաստանում կատարվում է առաջին անգամ:

Ուստի, ստացված արդյունքները որպես գենետիկական տեստ կարող են օգտագործվել կենդանիների ընտրասերման աշխատանքներում:

Նյութ և մեթոդ: Սույն աշխատանքում նպատակ է դրվել ուսումնասիրել Հայաստանում բուծվող Կորիդելի տիպի ոչխարների, հայկական Մուֆլոնի և դրանց տրամախաչումից ստացված հիբրիդների միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի հետևյալ լոկուսները՝ BM0757, BM1314, BM4621, BM6506, BM6526, INRA023, BM8125՝ որպես գենետիկական մարկերներ, ուսումնասիրվող տեսակների գենետիկական բնութագիրը հստակեցնելու և ոչխարների ու այծերի ընտրասերման աշխատանքներում օգտագործելու նպատակով [1, 2, 5]:

Հայկական Մուֆլոնից արյան նմուշառումը կատարվել է Երևանի Կենդանաբանական այգում բուծվող 3-4 տարեկան 3 արու կենդանիներից: Մուֆլոնի և ընտանի ոչխարի հիբրիդներից այն կատարվել է ՀՀ ԳԱԱ-ի Կենդանաբանության և Հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոնի փորձարարական բազայում բուծվող 1-2 տարեկան 17 գլուխ կենդանիներից, իսկ Կորիդելի տիպի ոչխարներից՝ ՀԱԱՀ Բալահովիտի ուսումնա-փորձնական տնտեսությունում բուծվող 2-3 տարեկան 16 գլուխ կենդանիներից: Արյունը վերցվել է հակամակարդիչ պարունակող վակուումային փորձանոթների միջոցով: ԴՆԹ-ն արյունից անջատվել է աղային մեթոդով, պրոտեինազա K-ի օգտագործմամբ [4], Համառուսական անասնաբուծության ինստիտուտի գենետիկայի լաբորատորիայում:

Ընդհանուր առմամբ նշված բոլոր աշխատանքները կատարվել են 2013-2017թթ. ընթացքում: Պոլիմերազային շղթայական ռեակցիան իրականացվել է համաձայն թիվ 1 աղյուսակում նշված պայմանների:

Աղյուսակ 1. Պոիմերային շղթյական ռեակցիաների (ՊՇՌ) պայմանները

Լոկուս	Քրոմոսոմ	Ուղիղ և հետադարձ պրայմերներ (5' →3')	Ամպլիֆիկացիայի պայմանները
BM0757	9	TGG AAA CAA TGT AAA CCT GGG TTG AGC CAC CAA GGA ACC	5 p. X 94°C; 30 x[20 c x94°C; 20cx48°C; 30 p x60°C]
BM1314	22	TTC CTC CTC TTC TCT CCA AAC ATC TCA AAC GCC AGT GTG G	5 p. X 94°C; 30 x[20 c x94°C; 20 p x 55'>C; 30 p X бO-'C
BM4621	6	CAA ATT GAC TTA TCC TTG GCT G TGT AAC ATA TGG GCT GCA TC	5 p.X 94°C; 30 x[20 c x94°C; 20cx48°C; 30 p x60°C]
BM6506	1	GCA CGT GGT AAA GAG ATG GC AGC AAC TTG AGC ATG GCA C	5 p. X 94°C; 30 x[20 c x94°C; 20 p x48T; 30 p X 6O°C1
BM6526	26	CAT GCC AAA CAA TAT CCA GC TGA AGG TAG AGA GCA AGC AGC	5 p. X 94"C; 30 x[20 c x94°C; 20 p x48°C; 30 p x60°Cl
BM8125	17	CTC TAT CTG TGG AAA AGG TGG G GGG GGT TAG ACT TCA ACA TAC G	5p. x94°C; 30x[20c x94°C; 20 c x 48°C; 30 p X 60°C]
INRA023	1	GAG TAG AGC TAC AAG ATA AAC TTC TAA CTA CAG GGT GTT AGA TGA ACT CA	5 p. X 94°C; 30 x[20 c x94"C; 20cx48°C; 30 p X 6O°C1

ԴՆԹ-ի հատվածների էլեկտրոֆորեզային տարանջատումը (սեկվենացիան) կատարվել է 6%-անոց պոլիակրիլամիդային գելի վրա (0.66 M Tris, 0.5 M H_3PO_3, 0.6 mM EDTA, 7 M միզանյութ), 1500 V լարվածության, 60 mA հոսանքի ուժի և 54^0C ջերմության պայմաններում (ALF Express automat eol DNA sequencer): Հետազոտվող լոկուսների ալելների նույնականացման նպատակով օգտագործվել է ALF Win Fragment Analyser 1.00.36 ծրագիրը:

Ինբրիդինգի գործակիցը հաշվարկվել է FSTAT ծրագրի միջոցով [3]:

Գենետիկական հեռավորությունը հաշվարկվել է Dispan ծրագրի միջոցով [7]:

Ալելների միջին թիվը, հետերոզիգոտության աստիճանը ստացվել են Microsatellite Toolkit ծրագրի օգնությամբ [8]:

Արդյունքներ և քննարկում: Դաշտային աղ. 2-ի տվյալներից ակնհայտ է դառնում, որ միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի ուսումնասիրված լոկուսների ալելների միջին քանակությամբ առանձնանում է Կորիդելի տիպը (9.2): Ըստ երևույթին դա պայմանավորված է տիպի ստեղծմանը մասնակցած ցեղերի հարուստ և բազմազան գենոտիպով:

Հայկական Մուֆլոնի սատելիտային ԴՆԹ-ի նույնանուն լոկուսների միջին քանակը ամենացածրն է (2.4), ինչը խիստ բնորոշ է վայրի կենդանիներին: Ինչ վերաբերվում է հիբրիդներին, այդ ցուցանիշը հավասար է 6.7-ի: Համաձայն պոլիմորֆ լոկուսների գնահատման ինդեքսի (PIC) [9] Կորիդելի տիպի ոչխարների նշված ցուցանիշը խիստ բարձր է կամ որ միևնույնն է, լոկուսները բազմաձև են, քանի որ PIC>0.5: Ինչ վերաբերվում է Հայկական Մուֆլոնին, ապա լոկուսները պակաս պոլիմորֆ են, գրեթե մո-

նոմորֆ (PIC<0.25): Հիբրիդների մոտ նշված ինդեքսը արձանագրել է միջինից բարձր ցուցանիշ (0.5>PIC>0.25): Միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի ուսումնասիրված լոկուսների ալելների ամենաբարձր հաճախականությունը նույնպես արձանագրվել է Կորիդելի տիպի ոչխարների մոտ (0.543): Մուֆլոնների տարբերակում նշված ցուցանիշը կրկնակի զիջում է Կորիդելի տիպին (0.292), իսկ հիբրիդների մոտ գրանցվել է միջին ցուցանիշ (0.343):

Աղյուսակ 2. Ուսումնասիրվող ցեղերի (տեսակի) գենետիկական բնութագիրը ըստ որոշ միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի լոկուսների

Տեսակը և ցեղը	n	Հոմոզիգոտության աստիճանը	Ալելների հաճախականությունը (P)	Ալելների միջին թիվը	Ինբրիդինգի գործակիցը (f)
Կորիդելի տիպ	16	0.676	0.543	9.2	0.24
Հայկական Մուֆլոն	3	0.803	0.292	2.4	0.85
Հիբրիդներ (Մուֆլոն x Կորիդելի տիպ)	17	0.288	0.343	6.7	0.41

Տեսակի կամ ցեղի գենետիկական բնութագիրը պարզաբանելը, տոհմասելեկցիոն աշխատանքները առավել կառավարելի և արդյունավետ դարձնելը պայմանավորված է մի շարք գենոտիպային և պարատիպային գործոններով, որոնցից հոմոզիգոտության աստիճանը և ինբրիդինգի գործակիցը շատ կարևոր են: Միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի ուսումնասիրված լոկուսների հոմոզիգոտության աստիճանը Կորիդելի տիպի ոչխարների մոտ կազմել է 0.676 կամ 67%: Հայկական Մուֆլոնի նույն ցուցանիշը հավասար է 0.803-ի կամ 80%-ի, իսկ հիբրիդներինը՝ 0.288 կամ 29%: Պետք է նշել, որ հոմոզիգոտության աստիճանի ցուցանիշով շատ հետաքրքիր միանման արդյունքներ են գրանցվել, երբ նշված ցեղերը նախկինում տեստավորվել են ըստ տրանսֆերինի և ցեուրոպլազմինի լոկուսների [6]: Այսպես, Կորիդելի տիպի, Հայկական Մուֆլոնի և հիբրիդների մոտ հոմոզիգոտության աստիճանը կազմել է համապատասխանաբար 67, 80 և 29,5%:

Ինբրիդինգի գործակցի առումով ամենաբարձր ցուցանիշը արձանագրվել է Երևանի կենդանաբանական այգու Հայկական Մուֆլոնների մոտ (0.85): Դա արդյունք է երկարատև, մոտ ազգակցական բուծման կամ արյունախառնության, ինչը կարող է անդառնալի հետևանքներ ունենալ Մուֆլոնների գենոֆոնդի պահպանման առումով: Ինբրիդինգի բարձր ցուցանիշ է գրանցվել նաև հիբրիդների տարբերակում: Այստեղ ևս ձեռնպահ չեն մնացել ազգակցական բուծումից: Ինբրիդինգի ակնհայտ ցուցանիշ է արձանագրվել նաև Կորիդելի տիպի Բալահովիտի պոպուլյացիայում, ինչը ևս անհանգստանալու տեղիք է տալիս:

Միկրոսատելիտային ԴՆԹ-ի ուսումնասիրված լոկուսների ալելների հաճախականության արդյունքները հնարավորություն են ընձեռում պատկերացում կազմել ուսումնասիրված ցեղերի (տեսակի) գենետիկական հեռավորության վերաբերյալ (D_A):

Աղյուսակ 3. Ուսումնասիրվող ցեղերի գենետիկական հեռավորությունը (D_A)

Ցեղը և տեսակը	Կորիդելի տիպ	Հայկական Մուֆլոն	Հիբրիդներ
Կորիդելի տիպ	0.000	-	-
Հայկական Մուֆլոն	0.989	0.000	-
Հիբրիդներ	0.616	0.631	0.000

Հետազոտության արդյունքներից ակնհայտ է դառնում, որ Հայկական Մուֆլոնը ոչ մի գենետիկական նմանություն չունի ո՛չ Կորիդելի տիպի ոչխարների, ո՛չ էլ դրանց ստեղծմանը մասնակցած տարբեր ցեղերի առաջացման հետ: Դա շատ կարևոր տեղեկատվություն է ցեղերի առաջացման էվոլյուցիայի տեսանկյունից: Ինչ վերաբերվում է հիբրիդներին, ապա նրանք համարյա հավասարաչափ գենետիկական հեռավորություն ունեն ելակետային ծնողական ձևերից:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Марзанов Н.С., Насибов М.Г., Озеров М.Ю., Кантанен Ю.* Аллелофонд у различньк пород овец по микросателлитам. Изд-во 13-Й ФОРМАТ. Дубровицы. 119 с., 2004.
2. *Озеров М.Ю.* Характеристика аллелофонда у различных пород овец по микросателлитам. Дисс. канд. биол. наук. М., 2004.
3. *Goudet J.* FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. Goudet J., J. Hered., *86*, 1995.
4. *Kantanen J.* Genetic diversity of domestic cattle (B. Europe) in North Europe Joensuu., 1999.
5. *Li M.H.* Genetic components in contemporary Faroe Islands Cattle as revealed by microsatellite analysis / Li M.H., Stembauer K., Haahr P.T., Kantanen J. J. Anim. Breed. Genet. *122*, p. 1-9, 2005a.
6. *Marmaryan G., Badalyan M., Kamalyan R.* Blood Protein Polymorphism of Small Cattle Bred in Armenia. Animal Science and Biotechnologies, *50*, 1, 2017.
7. *Nei M.* Accuracy of genetic distances and phylogenetic trees fi"om molecular data. Nei M., Tajima F., Tateno Y. Journal of МоксIIIш" Evolution., *19*, 1983.
8. Park S.D.E. Trypanotolerance in West AMcan Cattle and the Population Genetic Effects of Selection. University of Dublin (Ph.D. thesis). 2001.
9. *Vankan D.M.* Caprine blood groups. 2. The C, G, H, I, J, K, L, N and Q systems. Vankan D.M., Bell K. Biochemical Genetics. *31*, 1/2., p. 19-28, 1993b.

Ստացվել է 02. 02.2018