

Лейкий Н. Т. Влияние различных факторов на продуктивность молочного стада.— Информационный бюллетень № 5. Достижения науки и передового опыта в сельском хозяйстве. М., 1973.

Пилипенко И. И. Экономическая эффективность племенного скотоводства симментальской породы и пути ее повышения. Автореферат диссертации. К., 1973.

## **ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ДЕЯКИХ ІЗОФЕРМЕНТІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ**

**Я. А. ГОЛОТА**, кандидат біологічних наук

**І. З. СІРАЦЬКИЙ**, кандидат сільськогосподарських наук

Центральна дослідна станція по штучному осіменінню  
сільськогосподарських тварин

Вивчення генетичного поліморфізму систем сироватки крові сільськогосподарських тварин сприяє пізнанню генетичної конституції порід, ліній і стад. На особливу увагу заслуговує спадкове варіювання ензимів. Поряд з їх популяційно-генетичним спектром подібні дослідження можуть дати нові відомості, які допоможуть пізнати біологічні основи продуктивності сільськогосподарських тварин.

Метою нашої роботи було дослідити ступінь поліморфності і розподіл варіантів лужної фосфатази та церулоплазміну у сироватці крові великої рогатої худоби, що розводиться на Україні.

За даними К. Л. Маркерта і Ф. Мюллера (1959), лужна фосфатаза представлена декількома молекулярними формами. Вони вперше запропонували назвати численні молекулярні форми ферменту даного індивідуума ізоферментами.

На варіації лужної фосфатази сироватки крові звернув увагу С. Г. Бойер (1961), який відшукав шість різних зон активності сироваткової фосфатази (А, В, С, Д, Е, F), причому зони А, В і Д спостерігав тільки в сироватці крові вагітних жінок.

Вивчаючи лужну фосфатазу і її властивості в плазмі крові здорових і хворих людей, Д. У. Мосс (1961) не одержав позитивних результатів. Негативно впливає на проведення таких досліджень наявність у крові інгібіторів альбуміну, жовчних кислот, катіонів металів, а також факторів невідомої природи, які, мабуть, містяться в жовчі. Тому властивості лужної фосфатази в сироватці крові можуть відображати не стільки властивості ензиму, скільки властивості оточуючого його середовища.

Б. В. Гане (1963) відмічав, що в деяких пробах сироватки крові або плазми активність фосфатази зовсім не проявлялась, а в інших пробах одну або декілька смуг спостерігали з боку анода. Швидко рухоми фракцію фосфатази, яка спостерігалась в сироватці крові і викликала виникнення найбільш виразної смуги, позначили символом А. Її місцезнаходження відповідало зоні  $\alpha$ -глобуліну. Дві інші смуги виникали в зоні трансферину або зараз же перед нею. Іноді активність ферменту знаходилась близько до лінії старту або у зоні між початковою лінією і  $\alpha_2$ -глобуліном. При дослідженні монози-

готних пар близнюків великої рогатої худоби ніякої різниці всередині пар не встановлено, а між парами існувала чітко виражена різниця.

За повідомленням В. Р. Хермана (1971), фосфатаза передміхурової залози, яка характеризується  $\alpha$ -рухливістю, зумовлює гідроліз гліцерофосфату натрію і  $\alpha$ -нафтилфосфату при рН в межах 5,0—8,6. Доведено, що ензими, які гідролізують  $\alpha$ -нафтилфосфат у кислій і лужній рН, ідентичні в імунологічному відношенні.

К. Й. Прозора (1970) виявив три типи лужної фосфатази і позначив швидко рухома фракцію символом А, менше рухома — О і проміжну — АО.

У всіх протестованих тварин великої рогатої худоби старше року Л. М. Романов (1972) встановив три варіанти ферменту. Він звернув увагу на те, що у сироватці крові новонароджених телят спостерігалось 4—5 фракцій ферменту, які на ензімограмах рухались вдвічі даліше швидкої фракції і зникали до 10-місячного віку телят.

За даними В. А. Спіцина, О. В. Ірисової (1971), при обстеженні корінного населення Чукотки виявлено два нових варіанти лужної фосфатази, які позначили символами Рр 1—1, Рр 2—2, Рр 2—1 і Рр 1—3.

В останні роки опубліковані деякі роботи з поясненням електрофоретичної поведінки і поліморфізму металопротеїду сироватки крові міді, зв'язуючої  $\alpha_2$ -глобулін, названої Дж. К. Холбергом і К. Б. Лаурелом церулоплазміном (1948). Церулоплазмін сироватки крові ссавців є білком синього кольору з молекулярною вагою 151000. У плазмі крові його міститься близько 30 мг% від загального білка. Церулоплазмін має ензимні властивості, діє як оксидаза, тому його відносять до ензимів сироватки крові (Дж. К. Холберг і К. Б. Лаурел, 1951). Він характеризується значним варіюванням оксидазної активності у різних хребетних (А. С. Сіл, 1964) і каталізує окислення поліфенолів та їх похідних (гідрохінону, пірогалолу, діоксифенілаланіну, адреналіну) і аскорбінової кислоти. Особливо сильно каталізується цим ферментом окислення парафенілендіаміну, який в присутності церулоплазміну окислюється в 30 разів швидше, ніж без ферменту (М. Д. Подільчак, 1967).

Основним для міді є каталіз життєво важливих процесів обміну речовин. Л. Хейльмейер і співробітники (1941) повідомляли, що між міддю сироватки крові і захисною функцією існує закономірний взаємозв'язок.

Генетичний поліморфізм церулоплазміну в сироватці крові сільськогосподарських тварин вперше вивчив П. Імлах (1964). Він встановив у свиней три фенотипи, синтез і електрофоретична поведінка яких контролюється двома алелями  $Cr^A$  і  $Cr^B$ . Пізніше Й. Шреффель (1966) повідомив про генетичну обумовленість гетерозиготності церулоплазміну у великої рогатої худоби. Він виявив шість фенотипів церулоплазміну, які контролюються трьома аутосомними кодомінантними алелями  $Cr^A$ ,  $Cr^B$  і  $Cr^C$  (20). При цьому встановлено, що інтенсивність фарбування більш повільно мігрую-

чих фракцій, позначених  $Sr^B$  і  $Sr^C$ , слабше інтенсивності фракцій А. Різниця за електрофоретичною рухливістю між фракціями В і С також незначна. На основі цього Р. Ебертус (1967) змушений був допустити, що поліморфізм церулоплазміну у великої рогатої худоби проявляється трьома фенотипами  $SrAA$ ,  $SrBB$  і  $SrAB$ , які контролюються двома алелями  $SrA$  і  $SrB$ .

При вивченні поліморфізму церулоплазміну у трьох болгарських порід великої рогатої худоби Я. Димов, Ц. Маковеев, Д. Дрогнев (1972) встановили чотири фенотипи цероплазміну —  $AA$ ,  $CC$ ,  $AB$  і  $AC$ , чим підтвердили результати досліджень і гіпотезу Й. Шрефеля (1966).

**Методика досліджень.** Матеріалом для дослідження лужної фосфатази послужили проби сироватки крові від 2330 тварин і церулоплазміну 2138 тварин семи племінних заводів і племрадгоспів Укрголовцукру Міністерства харчової промисловості і Центральної дослідної станції по штучному осіменінню сільськогосподарських тварин.

Типи лужної фосфатази визначали електрофоретичним розподілом проб в крохмальному гелі за методикою Б. В. Гане. Електрофорез закінчували після просунення лінії іонів на 4—5 см від «старту». Після закінчення електрофорезу крохмальний блок розрізали пополам і інкубували в субстраті (рН 8,6) такого складу: трис — 1,84 г, лимонна кислота — 0,20, полівінілпіролідон — 1,0,  $NaCl$  — 4 г, 10-процентний  $MgCl_2$  — 10 крапель і  $\alpha$ -нафтилфосфат — динатрієва сіль — 200 мг. Інкубували в термостаті при температурі 37° протягом 30 хв. Як барвник використовували міцний синій  $RR$  або  $GBC$ . Після проявлення зимограми ставили в холодильник на 12 год. Потім фарбу зливали, зимограми промивали проточною водою і читали реакцію.

Поліморфізм генетично контролюючих типів церулоплазміну досліджували в сироватці крові електрофорезом на крохмальному гелі. Для виготовлення гелю брали 1,73 г трис-буферу, 0,85 г лимонної кислоти на 1 л дистильованої води і 16% крохмалю. Електроліт готували з 0,3 М борної кислоти і 0,1 М  $NaOH$ . Розгонку робили при 400 в до того часу, поки лінія Броуна не пройде 5 см до аноду при охолодженні до 4—5°. Після закінчення електрофорезу гель розрізали пополам і інкубували в термостаті при температурі 37—38° 2 год. Субстратом був парафенілендіамін.

**Результати досліджень.** На одержаних зимограмах ми відмітили чотири зони фосфатазної активності: швидку зону позначили через  $Pp$  1—1, менш швидку —  $Pp$  2—2 і наступні зони — через  $Pp$  2—1 і 1—3. Зона  $Pp$  1—3 відрізнялась від трьох інших наявністю однієї чітко вираженої швидкомігруючої і другої, що звичайно спостерігається в зоні  $Pp$  1—1, менш інтенсивно пофарбованої смуг.

Результати наших досліджень показують, що ступінь поліморфності лужної фосфатази високий і що варіанти  $Pp$  1—1 у великої рогатої худоби визначаються генетичною системою. В різних стадах і породах лужна фосфатаза має різний розподіл типів і різну концентрацію генів (табл. 1). Так, якщо в цілому по симентальській

1. Розподіл фенотипів і частота генів лужної фосфатази сироватки крові

Господарства	1-1						2-2		2-1		1-3		Частота генів			
	Всього	фак-тично	теоре-тично	фак-тично	теоре-тично	фак-тично	теоре-тично	фак-тично	теоре-тично	фак-тично	теоре-тично	фак-тично	теоре-тично	P <sup>1</sup> <sub>p</sub>	P <sup>2</sup> <sub>p</sub>	P <sup>3</sup> <sub>p</sub>
<i>Симентальська порода</i>																
Весело-Подільнянський плем-завод	467	243	242,3	62	63,7	124	123,5	38	37,5	0,694 ± 0,0151	0,266 ± 0,0144	0,040 ± 0,0064				
Драбівський племрадгосп	346	213	218,1	—	72	71,9	61	56	0,809 ± 0,0149	0,104 ± 0,0116	0,085 ± 0,0106					
Шамраївський племзавод	145	103	103	—	24	22,3	18	19,7	0,855 ± 0,0207	0,083 ± 0,0162	0,062 ± 0,0141					
Юзефо-Миколаївський плем-радгосп	364	170	169,9	60	59,5	90	89,9	44	44,7	0,651 ± 0,0179	0,228 ± 0,0155	0,061 ± 0,0089				
Матусівський племзавод	161	46	46	63	62,9	52	51,9	—	0,2	0,447 ± 0,0277	0,553 ± 0,0277	—				
Центральна дослідна станція	51	37	35,4	3	5	5	5	6	5,6	0,833 ± 0,0369	0,108 ± 0,0307	0,059 ± 0,0233				
Разом	1534	812	811,4	188	187,1	368	368	167	167,5	0,703 ± 0,0082	0,242 ± 0,0077	0,052 ± 0,0040				
<i>Чорно-ряба порода</i>																
Кожанський племзавод	310	230	234	24	23,5	49	45,6	7	6,9	0,833 ± 0,0150	0,156 ± 0,0146	0,011 ± 0,0042				
Центральна дослідна станція	53	43	44,1	—	6	6,4	4	3,5	3,5	0,905 ± 0,0284	0,057 ± 0,0225	0,038 ± 0,0186				
<i>Червона степова порода</i>																
Племзавод ім. Комінтерну	433	171	169	74	70,7	129,3	129,3	59	59	0,612 ± 0,0166	0,320 ± 0,0158	0,068 ± 0,0085				

породі концентрація алеля Рr 1—1 дорівнювала 69,4%, то в стаді племзаводу Шамраївського цукрокомбінату вона становила 85,5%, а в стаді Матусівського племзаводу вона дорівнювала тільки 44,4%. У стаді чорно-рябої породи племзаводу Кожанського цукрокомбінату алель Рr 1—1 становив 83,3%, а у бугаїв-плідників цієї ж породи Центральної дослідної станції — 90,5%. В червоної степової худоби алель Рr 1—1 займав 61,4%. Алелі Рr 1—1 і Рr 2—2 вказують на гомозиготність тварин за даним типом лужної фосфатази, а алелі Рr 2—1 і Рr 1—3 — на гетерозиготність.

У досліджених нами порід виявлено п'ять фенотипів церулоплазміну — АА, ВС, СС, АВ і АС (табл. 2), з яких найшвидше до аноду рухався тип АА, а потім типи ВВ і СС. Усі гомозиготні типи мали по одній смугі, а гетерозиготні — по дві з характерною для кожної смуги електрофоретичною рухливістю. Виявлені нами фенотипи церулоплазміну підтверджують дані Й. Шреффеля (1966) і Я. Димова, Ц. Маковеева та Д. Дрогнева (1972) про триалельний контроль шести фенотипів цього ензиму у великої рогатої худоби. У досліджених нами тварин симентальської і червоної степової порід найбільшу концентрацію мав алель  $Sr^A$ , а в стаді чорно-рябої породи — алель  $Sr^C$ .

Дані частоти алелів, що контролюють синтез різних молекулярних форм церулоплазміну, свідчать про деякі загальні тенденції. Так, в стадах симентальської породи концентрація алеля А найбільш стійка, значно менша концентрація алеля В і найменша концентрація алеля С. Серед гетерозигот найчастіше трапляються АВ і менше — АС. У стаді чорно-рябої худоби племзаводу «Кожанський» найбільша концентрація алеля С, менша — алеля А і найменша — алеля В. Худоба червоної степової породи має вищу концентрацію алеля А, ніж алелів В і С.

Ці дані свідчать про наявність різниці серед порід за частотою алелів в локусі церулоплазміну.

Генетична конституція різних популяцій визначає рівень їх гетерозиготності. Останнім часом успішно проводяться дослідження рівня гомозиготності окремих стад, популяцій і порід за допомогою частот алелів, які контролюють фенотипи сироватки крові. Природно, що найкраще уявлення про гомозиготність можна одержати, коли її аналізувати на підставі однієї багатоалельної системи, яка охоплює велику кількість різних генотипів. Однак встановлення гомозиготності за будь-яким окремим локусом, хоча і з меншою кількістю алелів, також може дати певне уявлення про це явище (табл. 3).

Найвищу гомозиготність мала червона степова порода і майже однакову — симентальська і чорно-ряба.

Таким чином, результати наших досліджень вказують на спадкове варіювання генотипів лужної фосфатази і церулоплазміну у трьох порід великої рогатої худоби, що розводиться на Україні. У великої рогатої худоби симентальської, чорно-рябої і червоної степової порід встановлено чотири фенотипи лужної фосфатази і п'ять фенотипів церулоплазміну. Типи лужної фосфатази і церу-

## 2. Розподіл фенотипів і частота генів церулоплазміну

Господарства	Стать тварин	Всього тварин	Типи церулоплазміну					Частота генів		
			AA	BB	CC	AB	AC	A	B	C
<i>Симентальська порода</i>										
Весело-Подільський племзавод	Корови	400	256	69	9	60	6	0,720 ± 0,0159	0,245 ± 0,0152	0,035 ± 0,0065
	Буґаї	26	17	2	2	5	—	0,750 ± 0,0600	0,173 ± 0,0524	0,077 ± 0,0370
Драбівський племрадгосп	Корови	321	162	51	—	107	1	0,673 ± 0,0185	0,325 ± 0,0185	0,002 ± 0,0017
	Буґаї	10	10	—	—	—	—	1,000 ± 0,000	—	—
Юзефо-Миколаївський племрадгосп	Корови	220	135	2	2	9	65	0,782 ± 0,0197	0,030 ± 0,0081	0,188 ± 0,0186
	Буґаї	11	4	—	2	—	5	0,591 ± 0,1049	—	0,409 ± 0,1049
Матусівський племзавод	Корови	161	73	38	—	50	—	0,609 ± 0,0272	0,391 ± 0,0272	—
Шамрайський племзавод	Корови	145	66	17	—	62	13	0,666 ± 0,0276	0,331 ± 0,0276	—
Центральна дослідна станція	Буґаї	50	22	2	5	8	13	0,650 ± 0,0476	0,120 ± 0,0324	0,230 ± 0,0421
Всього	Корови	1247	692	177	18	288	72	0,699 ± 0,0092	0,257 ± 0,0087	0,044 ± 0,0041
	Буґаї	97	53	4	9	13	18	0,706 ± 0,0327	0,108 ± 0,0223	0,186 ± 0,0279
Разом		1344	745	181	27	301	90	0,700 ± 0,0880	0,247 ± 0,0083	0,053 ± 0,0038
<i>Чорно-ряба порода</i>										
Кожанський племзавод	Корови	301	77	24	110	13	77	0,405 ± 0,0200	0,102 ± 0,0125	0,493 ± 0,0204
	Буґаї	9	6	—	3	—	—	0,666 ± 0,1109	—	0,334 ± 0,1109
Центральна дослідна станція	Буґаї	51	6	7	20	6	12	0,294 ± 0,0451	0,196 ± 0,0391	0,510 ± 0,0495
Разом		361	89	31	133	19	89	0,396 ± 0,0182	0,112 ± 0,0117	0,492 ± 0,0186
<i>Червоно-степова порода</i>										
Племзавод ім. Комінтерну	Корови	423	254	55	23	56	34	0,707 ± 0,0157	0,197 ± 0,0137	0,096 ± 0,0101
	Буґаї	10	7	—	1	2	—	0,800 ± 0,0894	0,100 ± 0,0671	0,100 ± 0,0671
Разом		433	261	55	24	58	34	0,710 ± 0,0154	0,194 ± 0,0134	0,096 ± 0,0100

3. Гомозиготність досліджуваних порід великої рогатої худоби, визначена на основі алелів церулоплазміну

Породи	Кількість тварин	Гомозиготність, %
Симентальська	1344	72,8
Чорно-ряба	301	73,0
Червона степова	433	78,5

лоплазміну контролюються трьома алелями одного локусу, частота яких залежить від особливостей стада і породи.

#### ЛІТЕРАТУРА

- Подильчак М. Д. Клиническая энзимология. К., «Здоровье», 1967.
- Романов Л. М. Наследственные вариации щелочной фосфатазы крови крупного рогатого скота.—«Цитология и генетика», 1972, № 3.
- Спицын В. А., Ирисова О. В. Об особенностях распределения типов кислой эритроцитарной и щелочной сывороточной фосфатазы крови у коренного населения Чукотки.—«Генетика», т. VIII, 1972, № 11.
- Херман В. Р. Энзимотически активные антигены семенной плазмы человека.—Тезисы докладов второго Международного симпозиума по иммунологии размножения. София, 1971.
- Abderalden R. Klinische enzymologie. Stuttgart, 1958.
- Boyer S. H. Alkaline phosphatase in human sera and placenta. Science, Vol. 134, pp. 34—36, 1961.
- Димов Я., Макавеев У., Дрогнев Д. Върху генетичния полиморфизъм на церулоплазмина при някои български породи говеда. «Генетика и селекция». 1972, № 2.
- Ebertus R. Untersuchungen über Ceruloplasmin—Polymorphismus beim Rind. Fortpflanz. Haust. 3, 265—270, 1967.
- Gahne B. V. Genetic variation of phosphatase in cattle serum. Nature, 1963, Vol. 138, 4890, pp. 305—306.
- Heilmeyer L., Keiderling W. und G. Stuwe. Kupfer und Eisen als körpereigene Wirkstoffe und ihre Bedeutung beim Krankheits Geschehen. Gustav Fischer Verlag, Jena, 1941.
- Holmberg G. C. und C. B. Laurell. Investigations in serum copper. III. Ceruloplasmin as an enzym. Acta Chem. Scand., 5, 476, 1951.
- Holmberg G. C. and C. B. Laurell. Investigations in serum copper. I. Nature of serum copper and its relation to the ironbinding protein in human serum. Acta Chem. Scand. 2, 550, 1948.
- Imlah P. Inherited variants in serum ceruloplasmins of the pig. Nature, Vol. 4945, 1964.
- Markert C. L., Moller F., Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species patterns. Proc. Natl. Acad. Sci., Wash., 45, 753, 1959.
- Moss D. W., Campbell D. M. Anagoston—Karekas and King B. J. Characterization of tissue alkaline phosphatase and their partial purification by starch—electrophoresis. Biochem. J. 81 (1961), pp. 441—446.
- Seal U. S. Vertebrate distribution of serum ceruloplasmin and sialic acid and the effects of pregnancy. Comp. Biochem. Physiol., 13, 143, 159, 1964.
- Schroffel J. et al. Serum ceruloplasmin polymorphism in cattle. Proc. 11th Europ. Conf. on Anim. Blood Groups and Biochem. Polymorphism. Warsaw, 207, 210, 1968.
- Schroffel J. Polymorphe Serummerkmale bei landwirtschaftlichen Tieren. Intern. Symp. on Anim. Blood Groups, Tupadly, CSSR, 1966.