

15.00–16.00 та 21.00 год, а середня кількість поїдання корму становить 11,2 разів. Група корів з вгодованістю до 3-х балів відзначалась піком в період з 7.00–8.00 та в 14.00 – 15.00 год, при цьому середня кількість поїдання корму становила 11,1 разів (рис. 6).

#### Висновки.

Пік кормової активності у корів господарств з режимним доїнням припадає на ранішній час, що пов'язано з тривалим нічним відпочинком тварин, зранку після якого їх направляли на доїння.

За добровільної системи доїння найбільша кормова активність у корів спостерігається після роздавання кормосумішей – вранці і після обіду.

У корів з середньою вгодованістю і найвищими добовими надоями кормова активність найвища. Встановлено залежність вгодованості корів та продуктивності з кормовою активністю, що підтверджує основний висновок про необхідність оцінки й врахування перших двох параметрів при формуванні технологічних груп.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. **Гулсен Я.** *Сигнали коров / Практическое руководство по менеджменту в молочном животноводстве.* – 2013. – 95с.
2. **Козырь В.С.** *Современные проблемы животноводства.* – Днепропетровск, 2009. – С. 147–148.
3. **Підпала Т.В., Ясевін С.Є.** *Етологічна оцінка придатності молочної худоби до інтенсивної технології // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва.* – 2012. – Вип. 7. – С. 70–74.
4. **Рубан С.Ю., Василевський М.В.** *Організація нормованої годівлі в молочному скотарстві.* – К., 2015. – 136 с.
5. **Кандиба В.М., Ібатуліна І.І., Костенко В.І.** *Теорія і практика нормованої годівлі великої рогатої худоби.* – Ж.: ПП «Рута», 2012. – 860 с.
6. **Шкурко Т.П.** *Продуктивне використання корів молочних порід.* – Дніпропетровск, ІМА-Прес, 2009. – С. 128–164.
7. **Naomi A.** *The Feeding Behavior of Dairy Cows: Considerations to Improve Cow Welfare and Productivity // Tri-State Dairy Nutrition Conference: Department of Animal Sciences The Ohio State University.* – 2007. – P.29–42.
8. **Provolo G., Riva E.** *Daily and seasonal patterns of lying and standing behaviour of dairy cows in a freestall barn // International Conference: "Innovation Technology to Empower Safety, Health and Welfare in Agriculture and Agro-food Systems".* – 2008. – P.1–8.
9. **Ribeiro Filho H.M.** *Foraging behavior and ruminal fermentation of dairy cows grazing ryegrass pasture alone or with white clover // Pesquisa Agropecuária Brasileira.* – 2012. – Vol. 47. – P.458–465.

**С.КОРІННИЙ**, канд. с.-г. наук

**Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН України**

Ефективність селекційної роботи значною мірою залежить від ідентифікації племінних тварин, визначення їх походження (батьківства), точності родоводів. Експертизу проходження тварин проводять за допомогою молекулярно-генетичного маркірування (генотипування) батьків і нащадків, виявлення фрагментів, характерних для певної генеалогічної групи тварин.

Така експертиза допомагає уникнути відразу декількох моментів:

- помилки в записах плідників, які знижують ефективність селекційного процесу;
- недостовірності результатів контрольної відгодівлі при оцінці тварин за фенотипом і генотипом в записах плідників;
- помилки в записах плідників, котрі ускладнюють, а часто унеможливають занесення племінних тварин в комп'ютерні бази даних та визначення племінної цінності тварин за BLAP;
- і, нарешті, можливих судових розглядів, пов'язаних з продажами плідників і племінного молодняка.

Раніше походження свиней визначали з використанням імуногенетичних маркерів. Така експертиза походження племінних тварин, у певні періоди розвитку свинарства в нашій країні і за кордоном, була обов'язковим елементом селекційної роботи.

У нинішніх умовах експертизу походження проводять за локусами мікросателітної ДНК. Мікросателітні маркерні системи відкривають можливості для генотипування організмів, експертизи походження, паспортизації ліній і порід, характеристики популяцій.

Мікросателітами називають прості короткі послідовності, що повторюються і утворюють тандеми, надалі названі простими тандемними повторами (ПТП англ. синоніми STR – *Short Tandem Repeat*, SSR – *Short Sequence Repeat*), переважно в центромірних та прицентромірних гетерохроматинових регіонах хромосом. Основою такого тандему є так звана «корова послідовність» з 1-6 нуклеотидів, наприклад, (CA)<sub>n</sub>. Кількість повторів (n), як правило, є високополіморфним і підпорядковується менделевському принципу успадкування.

Історично склалося, що для експертизи походження використовують мікросателітні маркери з динуклеотидними повторами. Недоліком цих маркерів є утворення неспецифічних продуктів ампліфікації (статорних смуг), що утворюються за рахунок помилок ДНК-полімерази. Іншим недоліком є складність електрофоретичного фракціонування та однозначного генотипування свиней за динуклеотидними повторами. Ці недоліки майже від-

\*Рецензенти:

докт. с.-г. наук, **О.І. Метлицька**, Інститут розведення і генетики тварин ім. М.В. Зубця, докт. біол. наук **С.О. Костенко**, Національний університет біоресурсів і природокористування України.

# Панель локусів мікросателітної ДНК з тетрануклеотидним МОТИВОМ

**Анотація.** Представлено результати щодо розробки панелі мікросателітних локусів з тетрануклеотидним мотивом для проведення генетичної експертизи походження тварин на рівні ДНК.

**Ключові слова:** експертиза походження, мікросателітний локус, тетрануклеотидний мотив, ідентифікація тварин.

**The Development of Microsatellites DNA Loci Panel With Tetranucleotide Core Motif.** SERGIY M. KORINNYI (The Institute of the Pig Breeding and Agroindustrial Production of NAAS).

**Abstract.** This paper presents the results of development microsatellite loci panel with tetranucleotide motif for genetic examination of the animal's origin at the DNA level.

**Key words:** expertise of origin, microsatellite loci, tetranucleotide motif, animal's identification.

сутні в тетрануклеотидних системах мікросателітів. Тетрануклеотидні системи широко використовують у практиці судової медицини [1].

Варто відзначити, що різні системи мікросателітних маркерів мають різну інформативність (кількість ефективних алелів, рівень гетерозиготності) в різних популяціях тварин, тому необхідно вести пошук найбільш інформативних локусів мікросателітної ДНК для генетичної експертизи та популяційних аналізів.

Метою нашої роботи було створити мультиплексну систему для генотипування свиней на основі мікросателітних маркерів з тетрануклеотидними повторами, які можна аналізувати на приладі для електрофорезу в денатуруючому поліакриламідному гелі з довжиною пробігу проби до 20 см.

За основу було обрано панель мікросателітних маркерів з тетрануклеотидними повторами, що рекомендована ISAG (Міжнародне товариство генетиків тварин). Дана оригінальна система маркерів розроблена для аналізу в автоматичних капілярних секвенаторах, які недоступні для більшості лабораторій, а також потребують вартісних реагентів. У даній



системі олігонуклеотидні праймери за допомогою яких здійснюється ПЛР ампліфікація мікросателітних локусів, обмежують фрагменти розміром від 248 до 547 нуклеотидів. Нами, на відміну від рекомендованих ISAG олігонуклеотидних праймерів, були розроблені праймери власного дизайну.

Розробка олігонуклеотидних праймерів власного дизайну передбачала пошук ділянок, що фланкують мікросателітні локуси з тетрануклеотидними повторами. Для аналізу з бази даних первинних послідовностей геному свині були обрані наступні GenBank Асс: СТ132285, CL412653, СТ228378, СТ145712, СТ248453,

**Таблиця 1**  
**Структура олігонуклеотидних праймерів для генотипування на основі тетрануклеотидних повторів**

	Назва локусу	Нуклеотидна послідовність праймерів	Розмір ПЛР-продукту
1	FH1589	F CCACTGAGAGGGCAGTGTGACC	181 п.н.
		R GGAATTGGGTAGAAGTTCGTGGGC	
2	FH3637	F CGAGAATGCCACACGTTAGCA	121 п.н.
		R CCCTGGCTTGGGAATTTGCAT	
3	FH4219	F CACATGCTGTGGGAGCAACC	92 п.н.
		R GCTCAGTAAGCCTAGGTAGG	
4	FH4231	F ACCTCCATATGCTGTGGGT	112 п.н.
		R AATGCAGAAGGGCTCACTCTT	
5	FH1810	F GAGATGATATGGCAAACCCAGTA	134 п.н.
		R AGGACTGCACCCACGGCATAT	

СТ116229, CL412214, СТ255714, CL360831, СТ251824, СТ207984, СТ203127, СТ070006, СТ066816, СТ227528, СТ175664, СТ300646, СТ268946, CL350916, CL357294, СТ087347, CL342849, СТ068314, СТ339576, СТ298721, СТ097558, СТ095741, СТ302890, СТ207299, СТ035157, СТ201286, СТ253408, СТ166740, СТ127688.

Аналіз первинних послідовностей мікросателітних локусів виконано за допомогою програми «FastPCR» [2].

**Результати досліджень**

У результаті проведеного аналізу було розроблено мультиплексну систему генотипування на основі тетрануклеотидних повторів. У мультиплексній системі використано п'ять мікросателітних локусів – триплекс (з можливістю аналізу відразу трьох локусів) і диплекс – (двох). Структура олігонуклеотидних праймерів власного дизайну, розміри ПЛР-продукту, що синтезується з їх використанням наведена в табл. 1.

**Таблиця 2**  
**Термодинамічні параметри олігонуклеотидних праймерів для генотипування після експериментальної перевірки**

	Праймер	Розмір (олігонуклеотиду в нуклеотидах)	Температура відпалу, розрахована виробником (°C)	Відсоток ГЦ (%)	Якість олігонуклеотиду (%)
1	FH1589F	22	61,7	63,6	94
2	FH1589R	24	60,0	54,2	92
3	FH3637F	21	57,5	52,4	91
4	FH3637R	21	58,5	52,4	87
5	FH4219F	20	59,2	60,0	96
6	FH4219R	20	53,9	55,0	86
7	FH4231F	19	55,4	52,6	91
8	FH4231R	21	56,2	47,6	93
9	FH1810F	23	54,3	43,5	86
10	FH1810R	21	60,4	57,1	92

Для експериментальної перевірки мультиплексної системи генотипування на основі тетра nukлеотидних повторів, було синтезовано олігонуклеотидні праймери.

Розміри продуктів ампліфікації мікросателітних локусів дають змогу використовувати триплексну (181, 121 та 92 нуклеотиди) 1-3 локуси і дуплексну 112 та 134 нуклеотиди (4-5 локуси) ампліфікацію і детекцію алелів.

Нами було також визначено основні термодинамічні параметри ампліфікації за умови використання розроблених олігонуклеотидних праймерів для мультиплексної системи генотипування на основі тетра nukлеотидних повторів, які наведено в табл. 2.

Термодинамічні параметри окремих олігонуклеотидних праймерів для ампліфікації тетра nukлеотидних мікросателітних локусів, а саме FH4219R, FH4231F та FH1810F, після експериментальної перевірки термодинамічних параметрів ампліфікації потребували корекції.

Найкращими експериментальними результатами при постановці мультиплексної ПЛР виявилась температура 58 °С. За даної температури в триплексі всі три локуси, а в дуплексі два в результаті ПЛР синтезувалися специфічні продукти ампліфікації.

Таким чином, в результаті виконання поставлених завдань, було розроблено мультиплексну (триплекс і дуплекс) систему генотипування на основі мікросателітних локусів з тетра nukлеотидними повторами.

#### Висновки.

1. Розроблено мультиплексну систему генотипування (триплекс і дуплекс) на основі тетра nukлеотидних повторів шляхом аналізу бази даних ДНК-послідовностей мікросателітних локусів з тетра nukлеотидними мотивами.

2. Розроблена мультиплексна система генотипування на основі тетра nukлеотидних повторів переважає стандартні системи на основі динуклеотидних повторів за рахунок відсутності неспецифічних (статорних) продуктів ампліфікації, що дає змогу проводити дану експертизу без залучення дорогих автоматичних секвенаторів, чим здешевлює генотипування тварин.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. **Н.Е. Кожухова, Г.Ф. Кривда, Р.Г. Кривда, та ін.** Використання аналізу ДНК у судово-медичних експертизах. : за редакцією Ю.М. Сиволапа та Г.Ф. Кривди. – Одеса: Одес. мед. ун-т, 2001. – 92 с.
2. **Kalendar R.** FastPCR Software for PCR Primer and Probe Design and Repeat Search // *Genes, Genomes and Genomics* 2009. – Vol. 3(1). – P. 1-14.

## Від чого залежить успіх у виробництві молока?

В Україні для збільшення виробництва молока потрібно підіймати надої з грубих кормів, про що в інтерв'ю Milk.ua сказав керівник відділу альтернативного утримання великої рогатої худоби Австрійського науково-дослідного аграрного центру Раумберг Гумпенштайн Хойслер Йоганн.

За його словами, треба раніше косити, повинна бути вища продуктивність механізованої складової, слід дотримуватися правил силосування. Якщо є така можливість, то потрібно скоротити відстань від поля до місця, де зберігаються корма, щоб вплинути на логістику.

— Необхідно продовжити термін використання тварин та їх життєвий надій. Для цього, знову-таки, потрібні грубі корми належної якості, плюс менеджмент стада. Взаємодія персоналу і його вміння розпізнавати основні взаємозв'язки на виробництві – основна передумова успіху. Не допоможе жоден суперфахівець, якщо ліва рука не знає, що робить права. Персонал, який безпосередньо працює з тваринами, повинен бути навчений і висококваліфікований, щоб раніше помічати проблеми і захворювання. Усувати потрібно причину проблеми, а не її симптоми, – зазначає експерт.

Також додає, що кожне господарство повинно йти своєю дорогою, використовуючи ті засоби виробництва, які у нього є. Також інтереси працівників підприємств повинні бути задоволені, оскільки успіх прийде тоді, коли людина в цьому зацікавлена.

[Kurkul.com](http://Kurkul.com)

