

Список використаної літератури:

1. Борисов В.М. Породные особенности физиологических показателей спермы хряков / В.м.Борисов, Е.Н.Анисько, Л.Г.Анисько / Сб. научных трудов Белорусской сельскохозяйственной академии.- Горки, 1978.- Вып. 45.-С. 3-7.
2. Войтенко С.Л. Оценка хряков немецкой селекции по биохимическим показателям крови, качеству спермы и воспроизводительной способности / С.Л.Войтенко, Б.С.Шаферивский// Матер. XIX междунар. научно-практ. конфер. «Современные тенденции и технологические инновации в свиноводстве».-Жодино-Горки, 2012.-С.33-36.
3. Кравченко О.О. Породні особливості сперматогенезу та спермопродукції кнурів-плідників / О.О.Кравченко // Аграрний вісник причорномор'я.- 2005.-Вип. 31.-с. 60-61.
4. Ткачук М.О. О половом созревании хряков / М.О.Ткачук// Свиноводство.-1981.- № 10.- С. 22-23.
5. Федоренкова Л.А. Сравнительная оценка импортных хрячков с Несвижской САО по росту, развитию и воспроизводительным качествам / Л.А.Федоренкова, Е.А.Янович /Матер. міжнар. науково-практ. конфер. «Зоотехнічна наука: історія, проблеми і перспективи».- К. Подільський, 2011.-С. 210-212.

Установлено, что хряки крупной белой породы, пьетрен и дюрок английской селекции фирмы JSR способны к ранней половой активности и высокого качества спермы, однако животные отличались по качественным показателям спермы не только в зависимости от породы, но и в ее пределах. Наименьшим объемом эякулята и высокой концентрацией спермы характеризовались кабаны породы дюрок. Использование хряка в восьмимесячном возрасте не имело негативного влияния на половую активность и качество спермы.

Ключевые слова: хряки, породы мясного направления производительности, качество спермы.

Found that the boars of Large White breed, Pietrain and Duroc breeding company JSR British capable of early sexual activity and quality of sperm, but the animals differed in semen quality parameters, not only depending on the breed, but also within it. The least amount of ejaculate and sperm concentration were characterized by high Duroc hogs. Using a boar in the age of eight months had a negative impact on sexual activity and sperm quality.

Keywords: boar, beef breed performance, the quality of sperm.

Дата надходження в редакцію: 21.01.2013 р.

Рецензент: д.с.-х.н., професор Л. М. Хмельничий

УДК 575: 636.082.2

ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦІЇ СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ХУДОБИ ПО ГЕНУ CSN3

Ю. В. Гузєєв, головний зоотехнік ТОВ "Голосієво" Броварського р-ну Київської області

В статті викладено інтегровані показники білків молока сірої української породи ВРХ різних генотипів капа-казеїнів. ДНК діагностика дозволяє оцінювати поліморфізм гена капа-казеїну на різних стадіях онтогенезу, незалежно від статі та віку тварин, та вводити в селекційний процес тестованих тварин з бажаними генотипами по CSN3.

Ключові слова: генофонд, популяція, днк-тестування, сіра українська худоба, кластер генів, молоко, капа-казеїн, сироваріння.

Постановка проблеми. Внаслідок інтенсивної діяльності людства в природі виникли незворотні зміни в екосистемах. Тисячоліттями апробовані природою тварини починають зникати, виникає розбалансування екосистем. На жаль, цей процес - не підвладний контролю, набув прискорених темпів, що змусило міжнародні організації з 1976 року розробити спеціальну програму ООН: "Збереження генетичних ресурсів тварин", в якій сформульовані рекомендації щодо вивчення та збереження генофонду тварин.[1-4]

Тому назріла гостра проблема в збереженні зникаючих порід сільськогосподарських тварин та створенні генофондних ферм, резервацій та ко-

лекціонаріїв.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

В більшості розвинутих країн світу стає актуальною проблема збереження біологічного різноманіття в агроекосистемах, генетичної консервації місцевих порід сільськогосподарських тварин.

Тварини локальних порід, як правило, характеризуються міцною конституцією, підвищеною стійкістю до хвороб, пристосованістю до екстремальних умов існування та експлуатації, довголіттям господарського використання, високою якістю продукції.

Особливо велике занепокоєння викликає

збереження генофонду великої рогатої худоби в силу біологічних особливостей цього виду, оскільки поголів'я місцевої худоби значно скоротилося, темпи його генетичного поліпшення та вдосконалення традиційними методами селекції незначні, а термін господарського використання тривалий, втрачені при фенотиповій селекції гени можуть бути втрачені назавжди [4,5,6].

Відомо також, що одностороння увага до будь-якої однієї ознаки зумовлює швидке досягнення селекційного плато. Результативність схрещування тварин, спеціалізованих за одним напрямком продуктивності, часто не перевищує ефективність гетеро-екологічних підборів при внутрішньопородному удосконаленні, тому практики періодично звертаються до локальних порід.

Селекція сільськогосподарських тварин є складовою частиною сучасної системи племінної роботи. При оцінці тварин молочних порід велике значення має не тільки високий рівень молочної продуктивності, але й якісні показники молока. Селекція на жирномолочність – це норма вітчизняного скотарства. Але селекції на вміст білку в молоці не приділялось достатньої уваги, хоча кількість білку в молоці та його структура має велику економічну значимість для переробної промисловості, оскільки в прямій залежності від цього змінюються витрати сировини, часу та енергоспоживання на виробництво молочних продуктів, крім цього, цей показник в значній мірі визначає і якість кінцевої продукції [3].

Попередні дослідження, проведені вченими в пошуках маркерних генів, пов'язаних з білково-молочністю, свідчать про взаємозв'язок білку в молоці з алельним станом гена капа-казеїну (1-3). Молоко тварин з генотипом CSN3^{BB} характеризується зменшеним розміром міцел, більш високим вмістом білку та кращими властивостями для сироваріння (коротший час коагуляції; коагулянт щільнішої консистенції). В зв'язку з цим великий інтерес має метод ДНК-діагностики, який дозволяє оцінювати поліморфізм гена капа-казеїну на рівні нуклеотидної послідовності, алельні варіанти, які можливо тестувати на різних стадіях онтогенезу, незалежно від статі та віку тварин [7-11].

Тому з 2007 р. під керівництвом доктора сільськогосподарських наук, проф. Вінничук Д.Т. та за підтримки заступника Міністра аграрної політики України Вербицького П.І. здійснено експедиційне обстеження генофонду сірої української худоби розведення якої в Україні ведеться в чотирьох господарствах: «Поливанівка» Дніпропетровської обл., «Маркеєво» Херсонської обл., «Голосіїво» Київська обл., та «Фота» Донецької області, Відсутність належної фінансової підтримки Міністерством АП України, та заморожування відомствами мінімальної фінансової допомоги цим господарствам зумовлює скорочення поголів'я сірої степової худоби в Україні що може призвес-

ти до повного її зникнення.

Під час експедиції були відібрані біопроби (тканина з вушної раковини та сперма плідників) для досліджень на сателітні ДНК та ДНК-діагностики по гену CSN3 білків молока. Для досягнення цієї мети був створений банк ДНК-біопроб сірої української породи великої рогатої худоби та проведено молекулярне дослідження поліморфізму гена капа-казеїну тварин методом ПЛР-ПДРФ-аналізу по методиці, розробленій в лабораторії молекулярної генетики і цитогенетики тварин Державного Національного Університету Всеросійського Інституту Тваринництва Російської сільськогосподарської Академії (Зінов'єва Н.А., Гладирь О.О. та ін., 2001 р.). Наші дослідження проведені також в цій лабораторії.

В молоці казеїн перебуває у вигляді специфічних частинок або міцел (від лат. *Micelle* – крихітка, крупинка), які є складними комплексами фракції казеїну з колоїдним фосфатом кальцію. Казеїн – комплекс чотирьох фракцій: AS1, AS2, B, K. Всі його фракції є фосфопротеїдами, тобто містять залишки фосфорної кислоти, приєднані до амінокислоти серину моноєфірним зв'язком [6,7].

Ген капа-казеїну (CSN3) має розмір 13 т.п.о. і складається з 5 екзонів загальною довжиною 850 п.о. та 4 інтронів. Як і інші білки молока CSN3 зустрічається в декількох поліморфних варіантах, виявлених шляхом електрофоретичного розділення казеїнової фракції в поліакриламідному гелі. Причинами білкового поліморфізму виявились поодинокі амінокислотні заміни які призводять до змін електрофоретичної рухливості.

В основі білкового поліморфізму CSN3 лежить генетичний поліморфізм послідовності гена CSN3. Всі амінокислотні заміни в послідовності білка зумовлені нуклеотидними замінами у відповідній кодувальній протеїн послідовності ДНК.

Найбільш поширені варіанти B та A, які різняться двома амінокислотними замінами (Thr¹³⁶→Ile і Asp¹⁴⁸→Ala), визваними відповідними крапковими мутаціями в позиціях 5309 (C→T) і 5345 [Aleksander et al., 1988; Vaiman et al., 1994].

Варіант B CSN3 відрізняється від варіанту A амінокислотною заміною (Asp¹⁴⁸→Ala), викликаною відповідною крапковою мутацією в позиції 5345 (A→C). Варіант E відрізняється від варіантів A, B, C, F та G амінокислотною заміною Ser¹⁵⁵→Gly, обумовленою крапковою мутацією A→G в позиції 5365 (*виявляються рестрикцією по ApaI*). Варіант C, який при двохалельній діагностиці помилково діагностується як варіант B, який відрізняється мутаціями двох нуклеотидів в позиціях 5192 і 5193 (GT→AC), які в свою чергу приводять до амінокислотної заміни Arg⁹⁷→His. Варіант G, може знаходитись серед варіантів A, відрізняється від базового алеля в позиції 5191, в якій в результаті мутації C→T виникає амінокис-

лотна заміна Arg⁹⁷→Cys. Різниця варіанту С от G може бути установлена в позиції 5191, в якій мутація першого заснування в триплоті (C→T) призводить до амінокислотної заміни Arg⁹⁷→Cys. Мутація в позиції 5337 (T→G) обумовлює появу варіанту F, який може перебувати серед варіантів А.

В теперішній час з'явилась можливість тестувати велику рогату худобу з використанням методу SSCP. Barroso A. з колегами (1998) використали SSCP для типування великої рогатої худоби по чотирьом алелям капа-казеїну – А, В, С, Е, а Prinzing E. з співавторами (1999) ідентифікували 9 з 10 алелей капа-казеїну – А, В, С, Е, F, G, H, I, A1.

При розведенні великої рогатої худоби бажаним є збільшення частоти алеля В CSN3 в популяції. Цей алель корелює з більш високим вмістом загального протеїну в молоці, підвищеним вмістом капа-казеїну, а також кращими сироварними характеристиками молока [Berg van der et al., 1992].

Суть методу заключається в проведенні ампліфікації фрагменту ДНК, що має мутацію, з наступним його розрізуванням відповідними рестрикційними ферментами. Довжини рестрикційних фрагментів визначають методом їх розділення в 1,5-2 % агарозному гелі. По довжині фрагментів (ПДРФ) роблять висновок про наявність або відсутність крапкової мутації, а також про гомозиготність або гетерозиготність індивідууму по даному алелю.

Постановка завдання. Метою нашої роботи було вивчення генофонду сірої української худоби, що розводиться на території України, для подальшого підтримання і збереження біологічного різноманіття сільськогосподарських видів тварин.

Матеріали та методи досліджень. Матеріалом для досліджень слугували проби тканин великої рогатої худоби (вушний вищип) та сперма самців. Проби тканини відбирали за допомогою щипців для мічення тварин та консервували в 100 % етиловому спирті. Подальше зберігання проводилось при -20°C [6].

Виділення ДНК проводили з допомогою NCC колонок фірми Nexttec (Германія) та використанням набору реагентів для виділення ДНК D1Atom™ DNA Prep100. Аналіз ДНК та постановку ПЛР проводили згідно «Методичним рекомендаціям по використанню методу полімеразної ланцюгової реакції в тваринництві» [Зіновьева Н.А. та інші, 1998].

Визначення аллелей А і В гена капа-казеїна виконували методом ПЛР-ПДРФ аналізу по методиці, розробленій в лабораторії молекулярної генетики і цитогенетики тварин ДНУ ВІТ (Дубровиці) [Гладирь О.О. та інші., 2001].

Реакції проводили в кінцевому об'ємі 20 мкл с 1×ПЦР буфером (16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 67,7 мМ

Трис- HCl, рН=8,8, 0,1% (v/v) Tween 20), 1,5 мМ MgCl₂, 200 мкМ динуклеотидтрифосфатів, 10 пмоль кожного із праймерів і 1 Од Tag-полімерази. Після початкової денатурації (95°C, 5 хв.) виконували 37 циклів ампліфікації при наступному температурно-часовому режимі: 94°C - 1 хв. для денатурації, 57°C - 30 сек для обпалювання праймерів та 72°C - 30 сек для полімеризації. По завершенні ПЛР 5 мкл реакції наносили в агарозний гель з метою контролю наявності фрагментів. У випадку успішної ампліфікації залишкову реакційну суміш обробляли 3од. ендонуклеази рестрикції *TagI*. Через 3 год. проводили електрофоретичне розділення фрагментів в 2% агарозному гелі в буфері TAE (130 V) с добавкою бромистого димідія до кінцевої концентрації 30 нг/мл з наступною візуалізацією під ультрафіолетовим світлом. Документацію результатів виконували, використовуючи пакет програм *BioDocAnalyze (Biometra)*.

Результати досліджень. Відомо, що до 1990-х років ХХ сторіччя спрямованої селекції на підвищення частоти алеля В казеїнової фракції молока не проводилось, тому частота основних генотипів AA, АВ, ВВ казеїну молока є результатами автоматичних генетичних процесів в межах досліджених популяцій молочної та молочно-м'ясної худоби.

Однак, слід прийняти до уваги, що до групи казеїнів входять складні фосфопротеїди (залишок фосфорної кислоти створює складний ефір з гідроксильною групою серину і забезпечує високу поживну цінність молока ссавців) і становить до 80 % всіх молочних білків (у вигляді казеїногенів), містять повний набір незамінних амінокислот, багаті валіном (7 %), лейцином (12 %), лізином (7 %).

У великої рогатої худоби, овець і кіз основні типи казеїнів кодуються кластером генів, а у корів вони визначають і придатність молока до виробництва твердих сирів високої якості.

В Японії особливу увагу надають вивченню субодиноць казеїнових міцел молока, які суттєво впливають на технологічні процеси формування згустку молока, його ніжності і густини. Це особливо важливо при виготовленні продуктів дитячого харчування.

При оцінці тварин молочних порід велике значення має не тільки високий рівень молочної продуктивності, але й якісні показники молока. Селекція на жирномолочність – це норма вітчизняного скотарства. Але селекції на вміст білку в молоці не приділялось достатньої уваги, хоча кількість білку в молоці та його структура має велику економічну значимість для переробної промисловості, оскільки в прямій залежності від цього змінюються витрати сировини, часу та енергоносіїв на виробництво молочних продуктів, крім цього, цей показник в значній мірі визначає і якість готової продукції [11].

**Частоти зустрічностей алелей і генотипів капа-казеїну
в досліджуваній популяції сірої української худоби**

| Група та порода худоби | n | Частоти генотипів, n/% | | | Частоти алелей | | Автори |
|----------------------------|----|------------------------|----------|----------|----------------|-------|----------------------|
| | | AA | AB | BB | A | B | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| Сіра українська | 22 | - | - | - | 0,500 | 0,500 | Журавель Г.В. [1999] |
| Сіра українська | 46 | - | - | - | 0,663 | 0,370 | Подоба Б.Є. [2009] |
| ТОВ «Голосієво» | 68 | 28/48,27 | 31/53,44 | 9/15,52 | 0,640 | 0,360 | Гузєєв Ю.В. [2009] |
| Спермобанк ТОВ «Голосієво» | 13 | 4/30,77 | 6/46,15 | 3/23,98 | 0,538 | 0,462 | Гузєєв Ю.В. [2009] |
| Асканія-Нова | 84 | 31/36,90 | 39/46,43 | 14/16,67 | 0,601 | 0,399 | Шельов А. [2011] |

Тому поліморфізм гену капа-казеїну впливає на якісний склад молока, прояв алеля В пов'язаний із більшим вмістом молочних білків та жиру, кращими показниками сичужного згортання молока та щільності отриманої сирної маси.

При порівнянні генотипів *табл.1* частота зустрічності алеля В у сірої степової худоби України по нашим дослідженням маточного поголів'я ТОВ «Голосієво» склала 0,360, по спермобанку ТОВ «Голосієво», який започаткувала Годованець Л.В. - 0,462. Подоба Б.Є. з співавт.[12], досліджуючи сіру українську породу в «Поливанівці», відмічає частоту зустрічності алеля В – 0,370, асканійська популяція по даним Шельова А. з співавт.[13] - склала 0,399, співставляючи з більш ранніми результатами Журавель Г.В., необхідно відмітити зниження частоти зустрічності алеля В у сірої української худоби, яка раніше становила 0,500.

Висновки

1). Використання методу ДНК – діагностики забезпечує можливість ідентифікувати генотипи молочних білків у корів, бугаїв – плідників та молодняку, що дозволяє ефективно використовувати генетичні ресурси по гену капа – казеїн в селе-

кційному процесі.

2). Формуючи генофондні банки гамет та генетичні ресурси заповідних ферм аборигенних зникаючих порід і популяцій тварин, необхідно орієнтуватися не тільки на потреби сьогоdnішнього дня, але і враховувати тенденції близької та віддаленої перспективи, оберігати і зберігати генофонд і тих тварин, які є носіями алелів AA та AB капа – казеїнів.

3). Так як сіра українська порода великої рогатої худоби була відмінним породотворчим матеріалом, генофонд цієї породи необхідно зберегти з метою подальшого використання при створенні нових порід і типів та вдосконалення вже існуючих порід великої рогатої худоби.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати можуть бути використані в практичній селекційній роботі племінних та товарних господарств з традиційними методами селекції, моніторингу та збереженню генетичного різноманіття конкретних стад на оптимальному рівні, що в кінцевому результаті забезпечить підвищення продуктивності великої рогатої худоби, та введення у відтворення тварин з бажаними генотипами по CSN3.

Список використаної літератури:

1. Завертяев Б.П. // Проблемы сохранения генофонда сельскохозяйственных животных.// Ж. "Сельское хозяйство за рубежом", 1983, №11, стр. 47-51.
2. Паронян И.А., Истомин А.А. //Пути сохранения генофонда крупного рогатого скота.// Животноводство, 1985, №5, стр. 17-19.
3. Облап Р.В.,Тарасюк С.І., Глазко В.І., Звержовскі Л.// Аналіз генетичної структури локальних порід за молекулярно-генетичними маркерами // Агроекологія і біотехнологія. Зб. наук. праць. Вип. 3, Київ, 1999, с. 161-168.
4. Столповская О.В., Столповский Ю.А., Годованец Л.В. //Сравнительное исследование полиморфизма белков серой украинской породы // Цитология и генетика, К., 1992, -26,5. – с. 11-17
5. Костюнина О.В. //Автореферат дисс. канд. биол. наук, Дубровицы, ВИЖ, 2004,22с.
6. Зиновьева Н.А. //Введение в ДНК-диагностику. /Н.А. Зиновьева/ Методы исследования и биотехнологии сельскохозяйственных животных: материалы международной научной конференции. Дубровицы, 2005.
7. Танана Л.А. и соавтор. //Сборник научных трудов. Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Выпуск 13, часть 2. Горки 2010, стр. 140-145.
8. Алексеева Н.Ю., Дяченко П.Ф. //Новые данные о казеиновом комплексе молока.// – М.: Центральный институт информации пищевой промышленности государственного комитета по пищевой промышленности при Госплане СССР, 1986, 56 с.
9. Тинаев А.Ш., Калашникова Л.А., Аджибеков К.К. //Влияние генотипа каппа-казеина на молочную продуктивность и состав молока первотелок черно-пестрой породы //Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных. Материалы конференции.- Дубровицы. – 2003. – 140-141.

10. Юрманова Н.А., Калашникова Л.А.// Качественные показатели молока коров-первотелок красно-пестрой породы с разными генотипами.// Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных. Материалы конференции. – Дубровицы. – 2003. – С. 152-153.

11. Горбатова К.К. //Биохимия молока и молочных продуктов. //К.К. Горбатова. 3-е изд. СПб: ГИОРД, 2004, С, 320 с.

12. Подоба Б.Є., Арнаут К.О., Ковтун С.І., Щердак О.В.//Дослідження генофонду сірої української породи за генетичними маркерами та ембріо – технологічними підходами.//К.: Ін – т розведення та генетики тварин УААН, 2009. – 6с.

13. Шельов А., Спиридонов В., Сонько Р., Глушаков Ю., Назаренко В., Омельченко Л. //Перспективи селекційного удосконалення сірої української породи ВРХ.//Тваринництво України.-№6.-2011.-с.-10 – 12.

В статье изложены интегрированные показатели альбуминов молока серой украинской породы КРС разных генотипов каппа-казеинов. ДНК-диагностика позволяет оценивать полиморфизм гена каппа-казеина на ранних стадиях онтогенеза, независимо от пола и возраста животных, внедрять в селекционный процесс животных с желательными генотипами CSN3.

Ключевые слова: генофонд, популяция, ДНК-тестирование, серая украинская порода КРС, кластер генов, молоко, каппа-казеин, сыроделие.

The article presents the integrated performance of milk albumin of gray ukrainian breed cattle of different genotypes of kappa-casein. DNA diagnostics allows evaluate polymorphism of kappa-casein in the early stages of development, regardless of gender and age of the animals, to adopt animals in the breeding process with the desirable genotype of CSN3.

Key words: genofonds, populations, DNA-diagnostics, gray ukrainian breed cattle, klasster gene, milk, kappa-casein, cheesemaking.

Дата надходження в редакцію: 20.02.2013 р.

Рецензент: д.с.-х.н., професор Л. М. Хмельничий

УДК 636.2.034

ЕМБРИОГЕНЕЗ І ПРОДУКТИВНІСТЬ МОЛОЧНОЇ ХУДОБИ

В. Ф. Вацький, к.с.-г.н., доцент;

С. А. Величко, аспірант.

Полтавська державна аграрна академія.

Висвітлено особливості зв'язку показників ембріонального розвитку телят з рівнем наступної молочної продуктивності корів-первісток.

Ключові слова: тривалість ембріогенезу, ембріональна швидкість росту, маса при народженні, молочна продуктивність.

Постановка проблеми. Одним із шляхів вирішення проблеми підвищення продуктивності молочної худоби є підвищення ефективності використання спадкових задатків продуктивності тварин. Для цього необхідно знати потенційні можливості організму кожної тварини, починаючи з її народження.

Проблемі зв'язку показників раннього онтогенезу з ростом, розвитком і продуктивністю тварин присвячено досить обширний науковий матеріал, але у зв'язку із недостатнім вивченням даного питання, розбіжністю поглядів науковців та неоднозначністю їх висновків наше дослідження набуває актуальності.

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми.

У процесі індивідуального розвитку тварин, починаючи з моменту утворення зиготи і закінчуючи природною смертю організму, відбувається постійна реалізація спадкової інформації. Ступінь її реалізації на певному етапі онтогенезу залежить від вже реалізованої програми розвитку на попе-

редньому етапі. Своєчасно не реалізована генетична інформація зменшує вірогідність оцінки потенційних можливостей організму тварин [1]. Для підвищення ефективності використання тварин, відмічається перспективність досліджень індивідуальних особливостей організму тварин у ембріональному та ранньому постембріональному періоді розвитку з метою подальшого удосконалення системи їх вирощування [1,8].

Показником сформованості та індикатором життєвої сили телят на початку постембріонального розвитку є їх маса при народженні. Одні вчені [2,3,9] виявили позитивний зв'язок маси телят при народженні з майбутнім рівнем їх молочної продуктивності, інші [10,11] заперечують існування такого зв'язку.

Подоба Е.Г. (1956) відмічає, що маса телят при народженні може вважатись показником якості тварин лише з тієї причини, що з цим показником до певної міри пов'язана їх енергія росту в ембріональний період, яка зберігається і після народження телят. Він вважає, що показником