

Обливанцов В. В. СЕЛЕКЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ФОРМИРОВАНИЯ И ОЦЕНКА ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ СЕМЕЙСТВ СУМСКОГО ВНУТРИПОРОДНОГО ТИПА УКРАИНСКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ

Представлены результаты научно-производственной работы по формированию и оценке новых высокопродуктивных семейств сумского внутривидового типа украинской черно-пестрой молочной породы крупного рогатого скота в стаде ведущего племзавода «Первое Мая» Сумской области. Маточные семейства коров характеризуются высокой молочной продуктивностью, перспективностью селекционно-племенной работы с ними и переводом лучших в заводские при увеличении количества животных в семействах, индивидуальном раздое коров, применении обоснованного племенного подбора, оценке по продуктивности и качеству потомства, типу телосложения, воспроизводительной способности и продуктивном долголетии.

Ключевые слова: украинская черно-пестрая молочная порода, сумской внутривидовый тип, семейство, селекция, оценка, продуктивность.

Oblyvantsov V. V. SELECTION METHOD OF FORMING HIGH-PERFORMANCE FAMILIES AND EVALUATION SUMY INNER BREEDER TYPE UKRAINIAN BLACK-AND-WHITE DAIRY BREED

Presents the results of research and production work on the formation and evaluation of new high productivity families of cows of Sumy inner breeder type of Ukrainian black-and-white dairy breed in the herd of the leading stud farm «Pervoemaya», Sumy region. The family of cows characterized by high milk productivity, the prospects of breeding work with them and the best translation in the factory by increasing the number of animals in families, individual milking of cows, the use of reasonable pedigree selection, evaluation in terms of productivity and quality of offspring, body type, reproductive ability and productive longevity.

Key words: the Ukrainian black-and-white dairy breed, Sumy inner breeder type, family cows, selection, evaluation, productivity.

Дата надходження до редакції: 10.04.2015 р.

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

УДК 636.082:575

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ СПЕРМІЇВ КНУРІВ РІЗНИХ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ ГАПЛОТИПІВ

К. Ф. Почерняєв, ст. науковий співробітник, к.б.н., завідувач відділом селекції та генетики;

А. В. Базалевич, к.с.-г.н., молодший науковий співробітник лабораторії фізіології відтворення;

В. Ф. Коваленко

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН України

Результати дослідження дозволяють припустити, що кнурам з мітохондріальними гаплотипами G і N притаманна краща терморезистентність сперміїв. Мітохондріальні гаплотипи можуть бути генетичними маркерами мітохондрій з різним рівнем експресії генів ферментів дихального ланцюга.

Ключові слова: кнури, спермії, мітохондріальні гаплотипи.

Протягом довгого часу роль мітохондрій у фізіології сперми і при різних патологіях були в значній мірі проігноровані. Недавні дослідження вказують на мітохондрії як головну органелу, яка відіграє ключову роль у функціонуванні сперміїв. Особлива увага звертається на такий практичний аспект ролі мітохондрій, як головне джерело сублетальних пошкоджень після кріоконсервації [1]. Спермій – вузько спеціалізована клітина, головною функцією якої є транспорт під час запліднення чоловічого гаплоїдного генома через жіночий статевий тракт до ооцита. Під час дозрівання в сім'яниках, сперматозоїди звільняються від більшості органел клітини, які містяться в акросомі. Залишається деяка кількість мітохондрій, які містяться в середній частині хвоста зрілого спермія. Останні, відіграють критичну роль безпосередньо під час запліднення. Спермії здатні до вироблення енергії у вигляді АТФ аеробним та анаеробним

метаболічним шляхом. Часто головним доступним джерелом енергії для спермія, як *in vivo* так і під час культивування *in vitro*, є моносахариди, які перетворюються на глюкозо-6-фосфат, молекула якого включається у гліколітичний шлях з утворенням пірувату. Пізніше, з пірувату може бути вироблено позаклітинний лактат, або піруват може включитися до мітохондріального циклу Кребса. Традиційно вважається, що основна роль мітохондрій при заплідненні є виробництво енергії для сперміїв. В даний час ця концепція знаходиться в процесі перегляду та обговорення [2, 3].

Мітохондрії можна знайти тільки в середній частині джгутика, тому, окисне фосфорилування відбувається тільки в цьому місці. Тим не менш, для підтримки рухливості сперміїв по всій довжині джгутика, потрібна велика кількість АТФ [4]. Дослідження на мишах показали, що дефект окисного фосфорилування не пригнічує рухливість

сперміїв [5]. Також показано, що спермії кнурів витрачають дуже невелику кількість синтезованого в циклі Кребса лактату [6]. Крім того, по всій довжині джгутиків сперміїв свавців були виявлені ферменти гліколізу, у тому числі гексокінази, ЛДГ і гліцеральдегід 3-фосфатдегідрогенази (GADP-S) [7].

Нуклеотидні заміни в послідовностях генів мітохондріального дихального ланцюга є однією з причин різного функціонального стану мітохондрій. Визначити всі нуклеотидні заміни найкраще методом сиквенсу. На сьогодні цей метод ще залишається досить витратним, тому певною альтернативою є використання мітохондріальних ДНК-маркерів, локалізованих на ділянці D-петлі мітохондріального геному, що не кодує гени і тому найбільш варіабельний. Існує термічний тест, що визначає функціональну активність сперміїв. Визначити зв'язок термострессійного фенотипу сперміїв з різними мітохондріальними гаплотипами кнурів стало метою роботи.

Методика досліджень. Для дослідження була взято зразки сперми 30 кнурів порід велика біла, дюрор та ландрас ЗАТ ПЗ «Агро-регіон» Бориспільського району Київської області. Виділення ДНК проводили з використанням іонообмінної смоли Chelex 100. [8]. Ампліфікація фрагмента D-петлі, що знаходиться між позиціями 15534 і 15962 мітохондріального геному, проводили на програмованому термостаті Терцик-2 (ДНК-технології, Росія) з використанням набору реагентів (Тапотіли, Росія) і олігонуклеотидних праймерів власного дизайну [9] MITPRO2F: catacaatatgtgaccscaa, MITPROR: gtagcatgggctgattagtc-3. Аліквоту продукту полімеразної ланцюгової реакції (5 мкл) гідролізували ендонуклеазою *Tas I* (MBI Fermentas, Литва).

Продукти ампліфікації і гідролізу ДНК аналізували в 8% поліакриламідному гелі. Як маркер молекулярної маси використовували ДНК плазміді *pBR322* гідролізованої ендонуклеазою *Msp I*. Тести на функціональну активність сперміїв виконували двома методами. Терморезистентність визначали шляхом інкубації сперми впродовж 3 годин при температурі 38°C. Для визначення термострессійності пробу сперми поперемінно витримують по 30 хв. при температурі 38°C та 13°C (передпорогова межа температурного шоку) протягом 3-х год. У обох методах підраховували кількість сперміїв з поступально-прямолінійною рухливістю, яку виражали у відсотках до загального.

Результати досліджень. Робота мітохондріального дихального ланцюга (білкових компонентів ферментних комплексів окисного фосфорилування) знаходиться під подвійним контролем мітохондріального і ядерного генома. Мітохондріальні ДНК-маркери характеризуються певним нуклеотидним складом регіону D-петлі, який не кодує білки і безпосередньо не впливає на експресію 13 генів ферментів дихального ланцюга і можуть бути тільки генетичними маркерами типу мітохондрій. Застосований методичний підхід потенційно дозволяє визначити в різних породах свиней 18 мітохондріальних гаплотипів, позначених латинськими літерами **A, B1, B2, C, D, E, F, G, H, I, J1, J2, K, L, M, N, O, P**. Серед досліджених кнурів було визначено п'ять різних мітохондріальних гаплотипів: **A, C, G, L, N**. в залежності від певних гаплотипів, незалежно від породної приналежності, кнури були згруповані в п'ять груп. Показники функціональної активності сперміїв, визначені по тестах на термостабільність відрізнялися у групах кнурів з різними мітохондріальними гаплотипами табл.1.

Таблиця 1

Показники функціональної активності сперміїв згідно з тестами на терморезистентність і термострессійність у групах кнурів з різними мітохондріальними гаплотипами.

Гаплотип	n	Показники активності сперміїв згідно термічних тестів	
		Терморезистентність	Термострессійність
A	31	10,3±1,79	14,0±8,61
C	35	30,14±5,9	11,82±1,41
G	8	43,75±0,66	11,25±1,82
L	29	15,06±3,42	15,6±1,57
N	10	36,3±10,9	3,4±1,33

Показники функціональної активності сперміїв, які пройшли тест на термострессійність, мало відрізнялися в групах кнурів, що мають різні мітохондріальні гаплотипи. Виняток склали лише спермії кнурів з гаплотипом **N**. У той же час рухливість сперміїв, що пройшли тест на терморезистентність залежала від мітохондріальних гаплотипів кнурів. Так у кнурів з мітохондріальними гаплотипами **G** і **N** показники терморезистентності були найкращими - 43,75 ± 0,66 і 36,3 ± 10,9% відповідно. У той же час, у кнурів з гаплотипами **A** притаманних породи дюрор та **L** – великій білі (європейський тип), виживаність сперміїв знижу-

валася майже в 2-3 рази. Подібні результати були одержані при порівнянні кількісних і якісних показників сперми чистопородних кнурів великої білої, йоркшир, ландрас, уельс і помісних кнурів (велика біла×йоркшир, велика біла×ландрас, велика біла×уельс, велика біла×дюрор) достовірних відмінностей за цими показниками не відзначається. У той же час, у кнурів породи дюрор показники спермопродукції були значно нижчі, ніж у тварин інших порід [10].

У роботах інших дослідників було показано зв'язок деяких господарсько-корисних ознак – вміст внутрішньом'язового жиру і білка в найдов-

шому м'язі спини, з мітохондріальними гаплотипами свиней. У лінії іберійських свиней Torbiscal було визначено більший вміст жиру і відповідно найменший вміст білка у носіїв гаплотипу H3, ніж у тварин з гаплотипами **H1, H2, H4, H5 і H6** [11].

Результати досліджень дозволяють припу-

стити, що кнурам з мітохондріальними гаплотипами G і N притаманна краща терморезистентність спермій. Мітохондріальні гаплотипи можуть бути генетичними маркерами мітохондрій з різним рівнем експресії генів ферментів дихального ланцюга.

Список використаної літератури:

1. Pena F.J. Mitochondria in Mammalian Sperm Physiology and Pathology: A Review / F.J. Pena, M.H. Rodriguez, J.A. Tapia, F.C. Ortega, L. Fernandez, B. Gonzalez, G. Macias // *Reprod. Dom. Anim.* – 2009. – V.44. – P. 345-349.

2. Marin S. Metabolic strategy of boar spermatozoa revealed by a metabolomic characterization. / S. Marin, K. Chiang, S. Bassilian, P.L. Wai Nang, L.G. Boros, Novell J.M. Fernandez, J.J. Centelles, A. Medrano, Gil J.E. Rodriguez, M. Cascante // *FEBS Lett.* – 2003. – V.554. – P.342-346.

3. Mukai C, Okuno M, Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement / C. Mukai, M. Okuno // *Biol. Reprod.* – 2004. – V.71. – P.540-547.

4. Cao W. Adenylate kinases 1 and 2 are part of the accessory structures in the mouse sperm flagellum / W. Cao, L. Haig, G.L. Gerton, S.B. Moss // *Biol. Reprod.* – 2006. – V.75. – P.492-500.

5. Escalier D. Knockout mouse models of sperm flagellum anomalies / D. Escalier // *Hum. Reprod. Update.* – 2006. – V.12. – P.449-461.

6. Marin S. Metabolic strategy of boar spermatozoa revealed by a metabolomic characterization / S. Marin, K. Chiang, S. Bassilian, P.L. Wai Nang, L.G. Boros, J.M.N. Fernandez, J.J. Centelles, A. Medrano, J.E.G. Rodriguez, M. Cascante // *FEBS Lett.* – 2003. – V.554. – P.342-346.

7. Nagdas S.K., Identification of a hamster sperm 26 kilodalton dehydrogenase reductase that is exclusively localized to the mitochondria of the flagellum / S.K. Nagdas, V.P. Winfrey, G.E. Olson // *Biol. Reprod.* – 2006. V.75. – P.197-202.

8. Walsh P.S. Chelex 100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material / P.S. Walsh, D. Metzger, R. Higuchi // *BioTechniques.* – 1991. - № 10. – P. 506.

9. Почерняев К.Ф. Определение гаплотипов свиней с использованием метода породоспецифичного ПЦР-ПДРФ митохондриальной ДНК / К.Ф. Почерняев // *Ветеринарная биотехнология* – 2005. – № 6. – С.138-143.

10. Масалькин В. Н. Воспроизводительные функции чистопородных и помесных хряков, рост и мясные качества их потомства в условиях промышленного комплекса: дис. канд. сельскох. наук. разведение, селекция, генетика и воспроизводство сельскохозяйственных животных 06.02.01 / Масалькин Владимир Николаевич; [Место защиты: Кур. гос. с.-х. акад. им. И.И. Иванова]. – Белгород, 2009. – 134 с. – 04201052219.

11. Fernández A.I. Mitochondrial genome polymorphisms associated with longissimus muscle composition in Iberian pigs / A.I. Fernández, E. Alves, A. Fernández, E. de Pedro, M.A. López-García, C. Ovilo, M.C. Rodríguez, L. Silió // *J. Anim. Sci.* – 2008. – V.86. – №6. – P.1283-1290.

Почерняев К.Ф., Базалевич А.В., Коваленко В.Ф. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СПЕРМИЕВ ХРЯКОВ РАЗНЫХ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГАПЛОТИПОВ

*Работа дыхательной цепи митохондрий находится под двойным контролем митохондриальных и ядерных геномов. Митохондриальные ДНК-маркеры расположены в области D-петли, и не кодируют белки дыхательной цепи и служат генетическим маркером типов митохондрий. Применение ПЦР-ПДРФ подхода потенциально позволяет определить 18 митохондриальных гаплотипов. Тесты на функциональную активность сперматозоидов была выполнена двумя способами. Терморезистентность определяли путем инкубации спермы на протяжении 3-х часов при 38°C, термострессустойкость – инкубацией спермы при многократном контрастном изменении температуры с 30-минутными интервалами в диапазоне от 38°C до 13°C (предпороговый предел температурного шока) на протяжении 3-х часов. Данные функциональной активности сперматозоидов на термострессустойчивость мало отличались у хряков с разными митохондриальными гаплотипами. Исключение было только у хряков с гаплотипами **G** и **N**. Показатели терморезистентности спермы у них были наилучшими – 43,75±0,66 и 36,3±10,9% соответственно. Одновременно, у хряков с гаплотипами **A** и **L** жизнеспособность сперматозоидов снизилась почти в 2-3 раза. Таким образом, результаты показывают, что хряки с митохондриальными гаплотипами **G** и **N** имеют более термострессустойчивые спермии. Митохондриальные гаплотипы могут быть генетическими маркерами митохондрий с разными уровнями экспрессии генов ферментов дыхательной цепи.*

Ключевые слова: хряки, спермии, митохондриальные гаплотипы.

Pochernyaev K.F., Basalevich A.V., Kovalenko V.F. FUNCTIONAL ACTIVITY OF BOAR SEMEN VARIED MITOCHONDRIAL HAPLOTYPES.

Results of the study suggest that boars with mitochondrial haplotypes G and N have the best thermos resistance of spermatozoa. Mitochondrial haplotypes may be genetic markers of mitochondria with different gene expression of respiratory chain enzymes.

Key words: boars, sperm, mitochondrial haplotypes.

Дата надходження до редакції:

Рецензент: д.б.н., професор Ю. В. Бондаренко

УДК636.223.1.082.4

**АНАЛІЗ ВІДТВОРЮВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ КОРІВ АБЕРДИН-АНГУСЬКОЇ
ТА СТВОРЮВАНОЇ УКРАЇНСЬКОЇ АНГУСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ**

Ю. С. Рой, аспірант*, Харківська державна зооветеринарна академія

* Науковий керівник – д.с.-г.н., професор **В.Г.Прудніков**

Вік статевої та фізіологічної зрілості, першого отелення настає раніше у корів абердин-ангуської породи. Корови обох порід характеризуються легкими отеленнями. Вони мають високу збереженість телят після підсосного періоду. Але корови створюваної породи мають перевагу за показниками молочності та живої маси телят при народженні. Маса новонароджених телят у цих корів була більшою на 6,9 кг. Молочність корів створюваної української ангуської м'ясної породи більша на 44,3 % в порівнянні з коровами абердин-ангуської породи. Корови абердин-ангуської породи мають довший сервіс-період. Корів зі збільшеним міжотельним періодом на 10 % менше серед корів створюваної української ангуської м'ясної породи.

Ключові слова: Абердин-ангуська порода, відтворювальна функція, молочність, сервіс-період, вихід телят, фізіологічна зрілість, статевая зрілість.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Проблема забезпечення населення м'ясом і м'ясопродуктами завжди була і буде важливою, і особливо вона загострилася в останні роки. Так, на сьогодні, в Україні рекомендований рівень споживання яловичини задовольняється менш ніж на 65% і з кожним роком скорочується.

Як свідчить досвід багатьох європейських країн(таких як США, Франція, Канада та ін.), щоб розв'язати проблему забезпечення населення м'ясом і м'ясними продуктами необхідно створити вітчизняні конкурентоспроможні м'ясні породи [1].

Аналіз останніх досліджень і публікацій.З імпорتنих порід в Україні найбільш розповсюджена абердин-ангуська. Худоба цієї породи є неперевершеною за якістю м'яса, легкістю отелень, відтворною здатністю, є невибагливою до кормів, має високу життєздатність та інтенсивність росту. Та слід, зазначити, що імпорту м'ясної худоби не тільки дорогий, але він має труднощі акліматизації завезених тварин до кліматичних умов нової зони розведення.

Тому одним з найважливіших напрямків селекції абердин-ангуської породи в Україні є створення української ангуської м'ясної породи, пристосованої до утримання на протязі усього року без капітальних приміщень, яка б характеризувалась високою відтворною здатністю, легкими отеленнями, гарними материнськими якостями, високою молочністю та забезпечувала високий вихід телят при відлученні [2]. Основна селекційно-племінна робота з абердин-ангуською породою в Україні ведеться з початку 70-х років і

по теперішній час [3].

Відтворювальні здатності корів є одним з найважливіших показників їх господарської цінності та можуть служити критерієм конституціональної міцності і ступеня адаптації до конкретних умов середовища [4].

Як показують дослідження в країнах з високим розвитком м'ясного скотарства, відтворювальна здатність корів в економічному відношенні має у 5 разів більше значення, ніж приріст і в 10 разів більше, ніж якість туші [5].

Згідно науковим даним, статевая зрілість тварин залежить від породних особливостей, умов вирощування, утримання та годівлі. Бички та телички скоростиглих порід відрізняються більш раннім настанням статевої зрілості, на відміну від пізньостиглих порід. На розвиток функції статевої системи впливають також кліматичні умови, такі як тривалість світлового дня, вологість і температура повітря та ін. В місцевостях південних широт статеве дозрівання у тварин настає раніше, ніж у північних широтах[6].

Метою дослідження було проаналізувати і дати оцінку відтворювальній здатності та молочності корів абердин-ангуської і створюваної української ангуської м'ясної породи в умовах цілорічно-вигульного утримання тварин без капітальних приміщень на Сході України.

Матеріал і методика досліджень. Досліди з вивчення відтворювальної здатності проводилися в господарстві «Агро Новоселівка 2009» Нововодолазького району Харківської області. Тварини в дослідному господарстві утримуються за