

УДК 636.02.082:575.113.1

МІЖПОРОДНА ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ М'ЯСНОЇ ХУДОБИ ЗА ЧАСТОТАМИ АЛЕЛІВ І ГЕНОТИПІВ ГЕНА КАЛПАЇНУ

М.Л. ДОБРЯНСЬКА¹, П.П. ДЖУС¹, Ю.В. ПОДОБА¹, К.В. КОПИЛОВ¹,
К.В. КОПИЛОВА¹, О.В. СИДОРЕНКО¹, Н.С. ЮДИН²

¹ Інститут розведення і генетики тварин НААН
Україна, 08321, с. Чубинське, вул. Погребняка, 1
e-mail: cvic_ua@mail.ru

² Федеральна державна бюджетна установа науки, Інститут цитології і генетики СВ РАН
Росія, 630090, Новосибірськ, пр. Ак. Лаврентьєва, 10

Мета. Провести дослідження міжпородних особливостей великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності за поліморфним варіантом *CAPN1 530* гена калпаїну. **Методи.** Визначення генотипів тварин досліджених порід за поліморфізмом *CAPN1 530* гена калпаїну здійснювали методом ПЛР-ПДРФ аналізу. Генетичні дистанції між породами за розподілом частот генотипів гена калпаїну розраховували за незваженим парно-груповим методом. **Результати.** Досліджені породи великої рогатої худоби характеризувалися високою частотою бажаного алеля G гена калпаїну. Найвища його частота була у породі сіра українська – 1,00, найнижча – у породі симентал – 0,35. **Висновки.** Отримані дані дали можливість охарактеризувати досліджені породи великої рогатої худоби за поліморфізмом *CAPN1 530* гена калпаїну.

Ключові слова: велика рогата худоба, ПЛР-ПДРФ аналіз, ген калпаїну, поліморфний варіант *CAPN1 530*.

Вступ. З огляду на світові тенденції щодо забезпечення продовольчої безпеки держав з кожним роком відбувається підвищення рівня вимог до реалізації програм з інтенсифікації систем ведення тваринництва. В Україні запорука розвитку його галузей, зокрема скотарства, і їх відповідність міжнародним стандартам обумовлюється, в першу чергу, відсутністю уніфікованого підходу до індивідуальної оцінки великої рогатої худоби за комплексом ознак. Згідно з рекомендаціями ICAR окрім загальноприйнятих селекційних параметрів одним із складових елементів цього комплексу є також генетичні характеристики тварин як на рівні організму, так і на рівні популяції [1, 2]. Таким чином, для можливості виведення продукції скотарства України на світовий експортний ринок необхідно розробити стратегію генетичної експертизи великої рогатої худоби і контролю за динамікою руху генетичної інформації всередині виду, породи та її змінами у поколіннях.

Для оптимізації і прискорення процесу виробництва високоякісної яловичини від спеціалізованих порід великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності доцільно запровадити ДНК-типуння тварин за генами, асоційованими з кількісними і якісними ознаками, зокрема локусами, що беруть участь у фенотиповому прояві мрамуровості і ніжності м'яса. Виявлення закономірностей у формуванні генетичної структури популяцій і дослідження міжпородної

диференціації великої рогатої худоби за поліморфними варіантами CAPN1 530 гена калпаїну та TG5 гена тиреоглобуліну значно розширить інформативність комплексної характеристики генетичного і, відповідно, селекційного потенціалу тварин та створить передумови для якісного укомплектування стад тваринами бажаного за продуктивністю типу і отримання в достатньому обсязі конкурентоспроможної продукції скотарства [3, 4].

Метою представленої роботи було дослідження міжпородних особливостей у великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності за поліморфізмом CAPN1 530 гена калпаїну.

Матеріали і методи

Молекулярно-генетичні дослідження проводили на зразках венозної крові 234 тварин шести порід великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності абердин-ангус, симентал, шароле, герефорд, південна м'ясна, сіра українська. Виділення ДНК проводили сорбентним методом. Дослідження проводили методом ПЛР-ПДРФ з оптимізацією температурних та часових умов [5]. Суміш для полімеразної ланцюгової реакції на 10 мкл: 4 мкл стерильної деіонізованої H₂O, 2 мкл 5-кратного буфера (250 mM KCL, 50 mM Tris-HCL (pH 8,3), 7,5 mM MgCl₂), 1 мкл суміші dNTP (по 2 mM кожного), суміші праймерів 0,8 мкл, Taq-полімерази 0,1 мкл, 2 мкл генетичної ДНК.

Для ампліфікації фрагмента гена калпаїну використовували такі праймери:

CAPN1 530f 5'-TCTTCTCAGAGAAGAGC GCAG – 3'

CAPN1 530r 5'-CTGCGCCATTACTATCG ATC – 3'.

Довжина ампліфікованого фрагмента складає 341 п.н. Рестрикційний аналіз для виявлення аельних варіантів А і G поліморфізму CAPN1 530 гена калпаїну прово-

дили за допомогою ендонуклеази рестрикції PstI.

У носіїв генотипу AA відсутній сайт рестрикції, відповідно ампліфікований фрагмент має довжину 341 п.н., у тварин з генотипом GG один сайт рестрикції з довжиною рестриктних фрагментів 195 п.н., 146 п.н. Носії генотипу AG характеризуються наявністю рестрикційних фрагментів розміром 341, 195 і 146 п.н.

Розрахунок індексів генетичної ідентичності і генетичної дистанції (за Nei M., 1972) проводили у програмі Pop Gen version 1.31. Статистичний аналіз виконували за допомогою стандартного пакета програм Microsoft Excels.

Результати та обговорення

Ніжність м'яса відносять до обов'язкових технологічних показників, за якими оцінюють якість яловичини і, відповідно, до ознак, що формують продуктивність великої рогатої худоби. Одним із генів, що бере участь у формуванні ніжності м'яса, є ген калпаїну. За поліморфним варіантом CAPN1 530 гена калпаїну у великої рогатої худоби типуються два алелі А і G, останній з яких асоційований із кращими показниками ніжності м'яса [6].

Згідно з результатами ПЛР-ПДРФ аналізу (табл. 1) у тварин порід симентал і південна м'ясна зустрічалися особини-носії трьох можливих генотипів за локусом CAPN1 530 – GG, GA, AA. Для сименталів характерна статистично значуще вища ($p < 0,01$) частота гетерозигот за геном калпаїну порівняно зі значенням аналогічного показника у порід абердин-ангус і шароле.

Для вибірки тварин сірої української породи характерна мономорфність за розподілом алелей і генотипів гена калпаїну. У дослідженій групі цієї породи відмічено найвищу частоту носіїв бажаного алеля G, що статистично значуще переважала його частоту в інших порід. Найнижчою його

Таблиця 1. Порівняльна оцінка частот алелей і генотипів гена калпаїну у тварин м'ясних порід великої рогатої худоби

Порода	Генотип			Алель	
	GG	GA	AA	G	A
Абердин-ангус	0,76±0,093 ^{a***}	0,24±0,093	–	0,88±0,071	0,12±0,071
Симентал	0,07±0,047	0,56±0,091 ^{c**}	0,37±0,088	0,35±0,087 ^{e***}	0,65±0,087 ^{a***}
Шароле	0,79±0,071	0,21±0,071	–	0,89±0,054	0,11±0,054
Геррефорд	0,68±0,084 ^{c***}	0,32±0,084	–	0,84±0,066 ^{c***}	0,16±0,066 ^{c***}
Південна м'ясна	0,60±0,083 ^{d***}	0,26±0,074	0,14±0,059 ^{d*}	0,73±0,075	0,27±0,075
Сіра українська	1,00 ^{e***}	–	–	1,00 ^{b***}	–

Примітки: ^a – між абердин-ангус і симентал; ^b – між абердин-ангус і сіра українська; ^c – між симентал і геррефорд; ^d – між симентал і південна м'ясна; ^e – між симентал і сіра українська; р – рівень значущості, * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001.

частота була у породі симентал – 0,35, у якої відмічено статистично значуще вищу (p<0,001) частоту алеля А на відміну від аналогічного показника у великої рогатої худоби інших порід. У тварин порід абердин-ангус, шароле, геррефорд і сіра українська спостерігалася відсутність гомозигот АА за геном калпаїну, що може бути пов'язано з відносно невеликою кількістю досліджених тварин.

На основі розрахованих значень гетерозиготності побудовано діаграму, що відображає популяційно-генетичні особливості досліджених порід великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності (рисунок).

Аналізуючи породні особливості за рівнем фактичної і теоретично очікуваної гетерозиготності у шести порід великої рогатої худоби, можна зазначити таке: для ге-

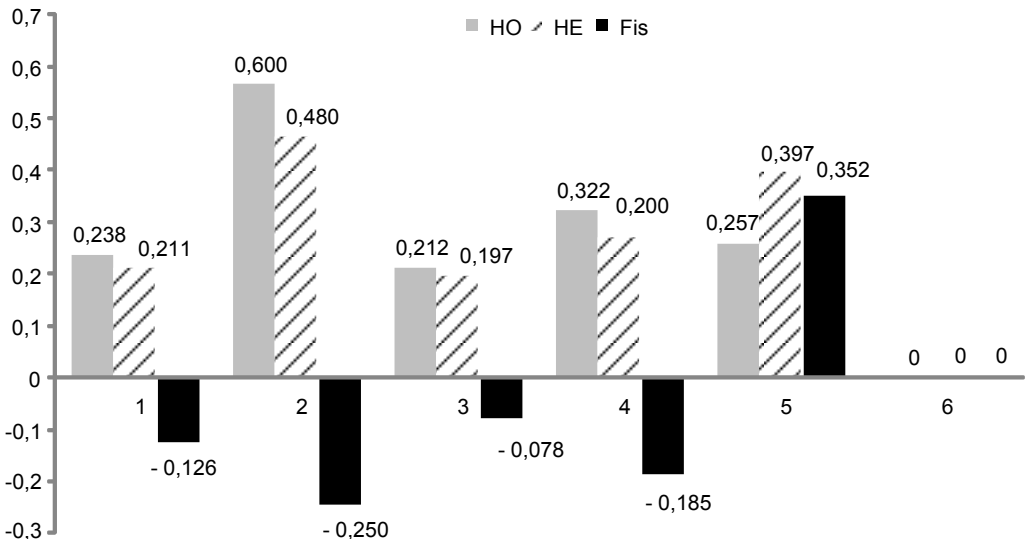


Рисунок. Показники гетерозиготності та індекс фіксації Райта у різних порід великої рогатої худоби за геном калпаїну: 1 – абердин-ангус, 2 – симентал, 3 – шароле, 4 – геррефорд, 5 – південна м'ясна, 6 – сіра українська; HO – фактична гетерозиготність, HE – очікувана гетерозиготність, Fis – індекс фіксації Райта

Таблиця 2. Індекси генетичної ідентичності та генетичної відстані між дослідженими породами великої рогатої худоби, розраховані за поліморфізмом *CAPN1 530* гена калпаїну

Порода	Абердин-ангус	Симентал	Південна м'ясна	Сіра українська	Шароле	Геррефорд
Абердин-ангус		0,7298	0,9854	0,9663	0,9981	0,9922
Симентал	0,3150		0,8319	0,6505	0,7109	0,7393
Південна м'ясна	0,0147	0,1841		0,9287	0,9817	0,9866
Сіра українська	0,0343	0,4300	0,0740		0,9525	0,9270
Шароле	0,0019	0,3412	0,0185	0,0487		0,9967
Геррефорд	0,0078	0,3021	0,0135	0,0758	0,0033	

нетичної структури порід абердин-ангус, симентал, шароле і геррефорд характерним є незначне переважання фактичної гетерозиготності за поліморфізмом *CAPN1 530* геном калпаїну порівняно з теоретично очікуваною, але ця різниця статистично незначуща, що може бути пов'язано з невеликою кількістю тварин у групах порівняння. Для тварин сірої української породи, на відміну від інших досліджених порід, відмічено відсутність алеля А поліморфізму *CAPN1 530* гена калпаїну. Всі тварини були гомозиготними носіями бажаного генотипу GG.

У табл. 2 наведено результати розрахунків генетичної відстані та генетичної спорідненості окремих порід великої рогатої худоби за особливостями розподілу поліморфних варіантів гена калпаїну.

Генетичні дистанції були в межах від 0,0019 до 0,4300. Мінімальна відстань зафіксована між породами шароле та абердин-ангус. Максимальна дистанція була характерна для тварин порід сіра українська і симентал.

Таким чином, молекулярно-генетичні дослідження дозволяють підвищувати ефективність індивідуальної оцінки тварин шляхом отримання інформації про особливості розподілу алелей і генотипів генів, які асоційовані з показниками м'ясної продуктивності, та простежити особливості успадкування господарсько-корисних ознак у процесі породотворення і залежно

від спрямування селекційної роботи з породами.

Висновки

Для порід великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності абердин-ангус, шароле, геррефорд та сіра українська характерна висока частота бажаного генотипу GG (0,6–1,0) гена калпаїну, що асоційований із ніжністю м'яса.

Згідно з розрахованими індексами за розподілом частот генотипів поліморфізму *CAPN1 530* гена калпаїну найбільшою генетичною подібністю характеризуються породи абердин-ангус і шароле. Найбільш генетично віддаленими є породи сіра українська і симентал.

Перелік літератури

1. *Van Eenennam A.L., Weaber R.L., Drake D.J. et al.* DNA-based paternity analysis and genetic evaluation in a large, commercial cattle ranch setting // *Journal of Animal Science.* – 2007. – Vol. 85, № 12. – P. 3159–3169.
2. *ICAR Recording Guidelines [International Agreement of Recording Practices]* (ICAR Guidelines approved by the General Assembly held Crok, Ireland on June 2012). – Copyright: ICAR, 2012. – 612 p.
3. *Costello S., O'Doherty E., Troy D.J. et al.* Association of polymorphism in the calpain I, calpain II and growth hormone genes with tenderness in bovine *M. longissimus dorsi* // *Meat Science.* – 2007. – Vol. 75. – P. 551–557.
4. *Barendse W.J., Bunch R., Thomas M. et al.* The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle // *Austr. J. Exp. Agric. Cult.* – 2004. – Vol. 44. – P. 66.

5. Smith T., Thomas M.G., Bidner T.D. et al. Single nucleotide polymorphisms in Brahman steers and their association with carcass and tenderness traits // Genet Mol Res. – 2009. – V. 20, № 8. – P. 39–46.
6. Page B.T., Casas E., Heaton M.P. et al. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle // J. Anim. Sci. – 2002. – Vol. 80. – P. 3077–3085.

*Представлено В.Г. Спірідоновим
Надійшла 11.02.2013*

**МЕЖПОРОДНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ
МЯСНОГО СКОТА ПО ЧАСТОТАМ АЛЛЕЛЕЙ
И ГЕНОТИПОВ ГЕНА КАЛПАИНА**

*М.Л. Добрянская¹, П.П. Джус¹, Ю.В. Подоба¹,
К.В. Копылов¹, К.В. Копылова¹,
А.В. Сидоренко¹, Н.С. Юдин²*

¹ Институт разведения и генетики животных
НААН Украины
Украина, 08321, с. Чубинское, ул. Погребняка, 1
e-mail: cvic_ua@mail.ru

² Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки, Институт цитологии
и генетики СО РАН
Россия, 630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврен-
тьева, 10

Цель. Провести исследования межпородных особенностей крупного рогатого скота мясного направления продуктивности по полиморфному варианту CAPN1 530 гена калпаина. **Методы.** Определения генотипов животных исследуемых пород по полиморфизму CAPN1 530 гена калпаина проводили методом ПЦР-ПДРФ анализа. Генетические дистанции между породами с помощью частот генотипов гена калпаина рассчитывали, используя невзвешенный парно-групповой метод. **Результаты.** Для исследованных пород характерна высокая частота желательного аллеля G гена калпаина. Наиболее высокая его частота отмечена у породы серая украинская – 1,00, наименьшая – у породы симентал – 0,35. **Выводы.** Полученные данные позволили оха-

актеризовать исследованные породы крупного рогатого скота по полиморфизму CAPN1 530 гена калпаина.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, ПЛР-ПДРФ анализ, ген калпаина, полиморфный вариант CAPN1 530.

**INTERPEDIGREE DIFFERENTIATION IN BEEF
CATTLE BY THE FREQUENCIES OF ALLELES
AND GENOTYPES OF CALPAIN GENE**

*M.L. Dobrianska¹, P.P. Dshus¹, Y.V. Podoba¹,
K.V. Kopylov¹, K.V. Kopylova¹,
O.V. Sydorenko¹, N.S. Yudin²*

¹ The Institute of Animal Breeding and Genetics
NAAN of Ukraine
Ukraine, 08321, Chubynske, Pogrebnyaka str., 1
e-mail: cvic_ua@mail.ru

² The Institute of Cytology and Genetics SB RAS
Russia, 630090, Novosibirsk, Ac. Lavrentyeva av.,
10

Aim. To conduct studies on interpedigree features of beef productivity cattle by the CAPN1 530 polymorphic variant of the calpain gene. **Methods.** Identification of animal genotypes in studied breeds by polymorphism of CAPN1 530 gene was performed through PCR-RFLP analysis. Genetic distances between breeds by the distribution of gene frequencies of calpain gene genotypes calculated by weighted pair-group method. **Results.** Investigated breeds of cattle were characterized by high frequency of desired G allele of calpain gene. Its frequency was highest in Ukrainian gray breed – 1.00, the lowest – in the symmental breed – 0.35. **Conclusions.** The results obtained made it possible to characterize the studied breeds of cattle by the CAPN1 530 polymorphism of calpain gene.

Key words: cattle, gene calpain, PCR-RFLP, polymorphism, breed specificity.