

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ ГОСПОДАРСЬКО-КОРИСНИХ ОЗНАК СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Т. М. Супрович¹, Н. Б. Мохначова²
 kokas2008@ukr.net, nm82@i.ua

¹Подільський державний аграрно-технічний університет,
 вул. Шевченка, 13, м. Кам'янець-Подільський, 32316, Україна

²Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН,
 вул. Погребняка, 1, с. Чубинське, Бориспільський р-н, Київська обл., 08321, Україна

Останніми роками спостерігається зникнення багатьох видів живих істот, зокрема й популяцій сільськогосподарських тварин. Основна їх частка припадає на місцеві (аборигенні) породи. Людство поступово втрачає неповторний генофонд домашніх тварин, які володіють низкою цінних господарсько-корисних ознак. Тому особливо актуальною є проблема збереження однієї з найдавніших місцевих порід — сірої української. Важливим залишається питання про вивчення сірої худоби за комплексом генетичних факторів, які зумовлюють неповторні ознаки фенотипу, особливо у можливості використання цієї породи в селекції за цінними господарсько-корисними ознаками.

Досліджено дві популяції корів сірої української породи за QTL-маркерами, які обумовлюють молочну продуктивність та якісні показники м'яса. У роботі використано зразки крові від 84 корів з господарства «Маркєєво» Херсонської області (стадо № 1) та 40 корів ДП ДГ «Поливанівка» Дніпропетровської області (стадо № 2). Спектр алелів генів гормону росту (GH), бета-лактоглобуліну (β LG), капа-казеїну (CSN3), тиреоглобуліну (TG5) і калпаїну (CAPN) вивчали за допомогою ПЛР-ПДРФ.

Дослідження генетичного поліморфізму генів двох популяцій української сірої породи показує, що за геном капа-казеїну виявлено переважання генотипу АВ (0,476) при прямо протилежному розподілі частот алелів А і В. За геном тиреоглобуліну простежується подібний розподіл алелів С і Т. Виявлено переважання генотипу СТ (0,571) у тварин стада № 1 і надлишок гомозигот для корів стада № 2. За геном калпаїну в стаді № 1 всі тварини були носіями гомозиготного генотипу за алелем G (1,0). Зате в алельному спектрі тварин стада № 2 домінує алель А (0,663) та його гомозиготний генотип.

Для тварин ДП ДГ «Маркєєво» визначено генетичний спектр за алелями генів β LG і GH. Для гену бета-лактоглобуліну встановлено значне переважання алеля В, який виявляється у 3 рази частіше, ніж алель А, що зумовлює дуже високу частоту прояву генотипу ВВ (0,512). Для гену гормону росту виявлено значне переважання генотипу LL (0,964) і, відповідно, алеля L (0,982), та відсутність генотипу VV.

Ключові слова: КОРОВИ, АЛЕЛІ, ГОСПОДАРСЬКО-КОРИСНІ ОЗНАКИ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ, ПОЛІМЕРАЗНА ЛАНЦЮГОВА РЕАКЦІЯ-ПОЛІМОРФІЗМ ДОВЖИНИ РЕСТРИКЦІЙНИХ ФРАГМЕНТІВ

GENE POLYMORPHISM OF ECONOMICALLY-USEFUL TRAITS IN UKRAINIAN GRAY CATTLE BREED

T. Suprovich¹, N. Mokhnachova²
 kokas2008@ukr.net, nm82@i.ua

¹State Agrarian and Engineering University in Podillya,
 13 T. Shevchenko str., Kamyanets-Podilsky 32316, Ukraine

²The institute of Animals Breeding and Genetics named after M. V. Zubets NAAS,
 1 Pogrebnyak str., Chubynske village, Boryspil district, Kyiv region, 08321, Ukraine

For recent years the disappearance of many species of living beings, including the populations of farm animals is observed. Most of them are local (native) species. Humanity is gradually losing unique gene pool of domestic animals that have a number of economically useful traits. Therefore, the problem of preserving one of the oldest local species — the grey Ukrainian breed is particularly relevant. It is important to study the issue of grey cattle complex of genetic factors that cause the phenotype of unique features, especially the ability to use this breed in the selection of securities for the economically useful traits.

Two populations of grey Ukrainian cattle breeds for QTL-markers that cause milk production and quality of meat have been investigated. Blood samples at 84 cows from the farm "Markeyevo" (herd no. 1) and 40 cattle farms "Polyvanivka" (herd no. 2) have been used. The spectrum of alleles of genes of growth hormone (GH), beta-lactoglobulin (β LG), kappa-casein (CSN3), thyroglobulin (TG5) and calpain (CAPN) was studied using PCR-RFLP.

The study of genetic polymorphisms of genes of two populations of Ukrainian grey breed shows that gene of kappa-casein has prevalence of genotype AB (0.476), while the opposite distribution of frequencies has alleles A and B. For alleles, gene thyroglobulin is observed a similar distribution of C and T. The prevalence of genotype CT (0.571) in animals of herd no. 1 and excess of homozygotes in cows of herd no. 2 is found. For gene calpain in the herd no. 1 all the animals were carriers of genotype homozygous for the allele G (1.0). However, in the allelic spectrum of animals of herd no. 2 allele A (0.663) and its homozygous genotype dominated.

For animals from the farm "Markeyevo" genetic spectrum alleles of genes β LG and GH is defined. For gene beta-lactoglobulin a significant prevalence of allele B is found, which appears 3 times more than the A allele that causes very high frequency manifestation of the genotype BB (0.512). For growth hormone gene we revealed a significant prevalence of genotype LL (0.964) and, accordingly, allele L (0.982), and the lack of genotype VV.

Keywords: COWS, ECONOMIC-USEFUL SIGNS, ALLELES, MOLECULAR GENETIC MARKERS, POLYMERASE CHAIN REACTION-RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫХ ПРИЗНАКОВ СЕРОЙ УКРАИНСКОЙ ПОРОДЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Т. М. Сунрович¹, Н. Б. Мохначева²
kokas2008@ukr.net, nm82@i.ua

¹Подольский государственный аграрно-технический университет,
ул. Шевченка, 13, г. Каменец-Подольский, 32316, Украина

²Институт разведения и генетики животных имени М. В. Зубца НААН,
ул. Погребняка, 1, с. Чубинское, Бориспольский р-н, Киевская обл., 08321, Украина

В последние годы наблюдается исчезновение многих видов живых существ, в том числе и популяций сельскохозяйственных животных. Основная их доля приходится на местные (аборигенные) породы. Человечество постепенно теряет неповторимый генофонд одомашненных животных, которые обладают рядом ценных хозяйственно-полезных признаков. Поэтому проблема сохранения одной из древнейших местных пород, серой украинской, является особенно актуальной. Важным остается вопрос об изучении серого скота по комплексу генетических факторов, которые обуславливают неповторимые признаки фенотипа, особенно в возможности использования данной породы в селекции по ценным хозяйственно-полезным признакам.

Проведено исследование двух популяций коров серой украинской породы по QTL-маркерам, обуславливающих продуктивность и качественные показатели мяса. В работе использованы образцы крови от 84 коров из хозяйства ИП ОХ «Маркеево» Херсонской области (стадо № 1) и 40 коров из ИП ОХ «Поливановка» Днепропетровской области (стадо № 2). Спектр аллелей генов гормона роста (GH), бета-лактоглобулина (β LG), каппа-казеина (CSN3), тиреоглобулина (TG5) и калпаина (CAPN) изучали с помощью ПЦР-ПДРФ.

Исследование генетического полиморфизма генов двух популяций украинской серой породы показывает, что по гену каппа-казеина выявлено преобладание генотипа АВ (0,476), при прямо противоположном распределении частот аллелей А и В. По гену тиреоглобулина отмечается подобное разделение аллелей С и Т. Выявлено преобладание генотипа СТ (0,571) у животных стада № 1 и избыток гомозигот для коров стада № 2. По гену калпаина в стаде № 1 все животные были носителями гомозиготного генотипа по гену G (1,0). Зато в аллельном спектре животных стада № 2 доминирует аллель А (0,663) и его гомозиготный генотип.

Для животных хозяйства «Маркеево» определен генетический спектр аллелей генов β LG и GH. Для гена бета-лактоглобулина установлено значительное преобладание аллели В, которая определяется в 3 раза чаще аллели А, что приводит к очень высокой частоте проявления генотипа ВВ (0,512). Для гена гормона роста выявлено значительное преобладание генотипа LL (0,964) и, соответственно, аллели L (0,982), и отсутствие генотипа VV.

Ключевые слова: КОРОВЫ, АЛЛЕЛИ, ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫЕ ПРИЗНАКИ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ-ПОЛИМОРФИЗМ ДЛИНЫ РЕСТРИКЦИОННЫХ ФРАГМЕНТОВ

Сучасні тенденції в розвитку молочного тваринництва характеризуються збільшенням чисельності і розширенням ареалу найбільш високопродуктивних порід. Це призводить до різкого скорочення і повного витіснення нечисленних аборигенних порід, які створені довготривалою народною селекцією і є цінними генетичними ресурсами, оскільки найкраще пристосовані до місцевих умов [7, 12, 17]. Саме до таких належить сіра українська порода великої рогатої худоби. Тварини цієї породи мають міцну конституцію, високу резистентність відносно захворювань, адаптовані до умов середовища, в якому їх розводять, що дозволяє використовувати їх при удосконаленні наявних і новостворюваних порід та типів великої рогатої худоби. При збереженні локальних порід важливо зберегти не тільки біологічні особливості тварин, але й унікальні гени та їх комбінації [13].

Отримання тварин бажаних генотипів на основі досягнень сучасної генетики і біотехнології в тваринництві можна розглядати як інструмент для послідовного поліпшення генофонду порід великої рогатої худоби. У вирішенні цього питання значну і дедалі більшу роль відіграють молекулярно-генетичні методи досліджень, які можуть принципово змінити підходи до раннього прогнозування продуктивних якостей тварин [4, 10]. Найбільш інформативними в цьому аспекті є ДНК-маркерні системи, засновані на аналізі поліморфізму структурних генів, які беруть участь у формуванні та функціонуванні господарсько-корисних ознак. До одних із найпоширеніших потенційних ДНК-маркерів ознак продуктивності ВРХ належать гени: гормону росту (*bGH*), бета-лактоглобуліну (*βLG*), тиреоглобуліну (*TG5*), калпаїну (*CAPN*), капа-казеїну (*CSN3*) [11, 14, 16].

Ген *CSN3* пов'язаний з вмістом білка в молоці та його технологічними властивостями [9, 11]. Різні алельні варіанти гена *βLG* асоційовані з високим вмістом у молоці окремих фракцій казеїнових і сироваткових білків, відсотком жиру та позитивно впливають на молочну продуктивність [3, 8, 11]. За цим геном здійснюється контроль якості молочних продуктів і виявлення фальсифікації молока. Доведено його роль у протимікробній активності до

збудників маститу [14]. Ген *TG5* кодує попередиників тиреоїдних гормонів, які беруть участь в утворенні жирових клітин і формуванні мармуровості м'яса. Ген *CAPN* бере участь в процесі протеолізу при дозріванні м'яса і сприяє вищій ніжності м'яса [1, 5, 16]. Ген *bGH* є важливим регулятором соматичного росту тварин і має лактогенну та жиромобілізаційну дію [16].

Мета роботи: провести аналіз генетичної структури популяції сірої української породи ВРХ за генами господарсько-корисних ознак: капа-казеїну (*CSN3*), бета-лактоглобуліну (*βLG*), гормону росту (*bGH*), тиреоглобуліну (*TG5*) та калпаїну (*CAPN*) і визначити їх поліморфізм.

Матеріали і методи

Досліджено зразки крові від корів сірої української породи з господарств ДП ДГ «Маркеєво» (стадо № 1, n=84) Херсонської області та ДП ДГ «Поливанівка» Дніпропетровської області (стадо № 2, n=40). Молекулярно-генетичні дослідження проводились на базі лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин ім. М. В. Зубця НААН. Кров для виділення ДНК відбирали з яремної вени в об'ємі 5 мл у вакуумні пробірки з сухим ЕДТА. Геномну ДНК з крові виділяли згідно зі стандартною методикою, використовуючи *Chellex-100*.

Поліморфізм генів *bGH*, *βLG*, *TG 5*, *CSN3* та *CAPN1530* досліджували методом ПЛР-ПДРФ [6, 15]. Нуклеотидні послідовності праймерів для ампліфікації та назви рестриктаз для рестрикції продуктів ампліфікації показано у таблиці 1.

Суміш для проведення ПЛР у своєму складі містила: 2 мкл буфера для ДНК полімерази, 1 мкл суміші три фосфатів («Амплісенс», Росія), 0,8 мкл відповідного праймера, 0,2 мкл ДНК-полімерази («Fermentas», Литва). Геномну ДНК додавали у кількості 1,5 мкл. Загальний об'єм ДНК-суміші становив 10 мкл. Ампліфікацію сумарної ДНК з праймерами проводили на програмованому чотириканальному термоциклі «Герцик» («ДНК-технологія», Росія). Продукти ПЛР були оброблені специфічними ендонуклеазами рестрикції (табл. 1) за

Нуклеотидні послідовності праймерів та рестриктази
The nucleotide sequences of primers and restriction endonuclease

Ген Gene	Послідовність праймера 5'–3' The sequence of primer 5'–3'	Рестриктаза Restriction endonuclease	Посилання Reference
<i>CSN3</i>	GAAATCCCTACCATCAATACC CCATCTACCTAGTTTAGATG'	HindIII	S. Kaminski, 1993
<i>βLG5</i>	TGTGCTGGACACCGACTACAAAAAG GCTCCCGGTATATGACCACCTCT	HaeIII	J. Medrano, 1990
<i>bGH</i>	GCTGCTCCTGAGGGCCCTTC GCGGCGGCACTTCATGACCC	AluI	M. C. Lucy et al., 1993
<i>TG</i>	GGGGATGACTACGAGTAT GACTG GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGT	PsuI	V. Alison, 2007
<i>CAPN1530</i>	TCTTCTCAGAGAAGAGCGCAG CTGCGCCATTACTATCGATC	PstI	B. T. Page et al., 2002

схемою: H₂O — 3,5 мкл, 10x буфер для ензиму — 1,0 мкл, рестриктаза — 0,5 мкл та 5,0 мкл ампліфікату на 10 мкл робочої суміші. Візуалізацію результатів проводили шляхом електрофоретичного розподілу фрагментів ДНК у 2 % агарозному гелі у 1xTBE-буфері з наступною детекцією за допомогою трансільюмінатора ТУВ-1 в ультрафіолетовому світлі з довжиною хвилі 312 нм.

Розміри отриманих у ПЛР або в результаті рестрикції продуктів виявляли за допомогою маркерів молекулярних мас: *GeneRuler TM 50 bp DNA Ladder*, *GeneRuler TM 100 bp DNA Ladder*, *SM0378*, «*Fermentas*». Результати рестрикції фіксували фотографуванням гелів цифровою камерою. Типи алелів визначали при аналізі фореграм (рис. 1–5).

При аналізі генетичної структури груп тварин за дослідженими генами використовували такі показники: частота алелів та генотипів, рівень фактичної (H_0) та очікуваної (H_e) гетерозиготності. Оцінку відповідності частот генотипів рівновазі Харді-Вайнберга проводили за критерієм Пірсона (χ^2) з поправкою Йетса для малих вибірок за узвичаєною методикою. Всі розрахунки проведені у стандартному пакеті *Excel*.

Результати й обговорення

У результаті проведеного генетичного аналізу популяції ДП ДГ «Маркеєво» за поліморфізмом генів *bGH*, *βLG*, *TG5*, *CSN3* та *CAPN1530* були отримано дані стосовно розподілу частот генотипів і алелів (табл. 2).

Для гену капа-казеїну описано дев'ять алельних варіантів, але для аналізу поліморфізму

застосовують тільки два *A* і *B*, тому що вони бувають у всіх породах ВРХ. Варіант *B* гену *CSN3* є результатом двох точкових мутацій — у положеннях 136 і 148 п.н., які призводять до амінокислотних замін *Tyr-Iso* та *Ala-Asp*.

За геном капа-казеїну *CSN3* (рис. 1) частота алельного варіанта *A*, асоційованого з підвищеним надоем, значно вища, ніж частота алеля *B*. Алельний варіант *B* гена *CSN3*, який пов'язує з високим вмістом білка в молоці та кращими технологічними показниками для виробництва твердих сирів, у дослідженій популяції проявляється набагато рідше (0,393). Для того, щоб охарактеризувати ступінь різноманітності генів і оцінити еволюційні сили, які її сформували (відбір, інбридинг, структура популяції), необхідно порівняти очікувану та спостережувану гетерозиготність. Спостережувана гетерозиготність визначається за фактичною кількістю тварин, а очікувана — на основі генетичної рівноваги Харді-Вайнберга. Гомозиготні генотипи *AA* і *BB* сумарно проявлялися трохи більше, ніж у половини стада (52,4 % випадків). Рівноважний стан гомо- і гетерозигот зумовлює майже однакові величини очікуваної та спостережуваної гетерозиготності для гену *CSN3*, що підтверджує нульову гіпотезу про генетичну рівновагу і про відсутність селективного тиску на алельний стан цього локусу.

Наші дані для стада № 1 узгоджуються з даними інших авторів: у дослідженнях Копилової К. В. зі спів. (2006) [9], проведених на тваринах сірої української породи (n=46) спостерігалася низька частота алеля *B* (0,337), частоти генотипів *AA* (0,456) та *AB* (0,413), і тільки 6 тварин виявилися носіями гомозиготного генотипу *BB* (0,13).

Дещо інша картина спостерігається у стаді № 2 (табл. 3). Для гену капа-казеїну визначається 26 гетерозиготних корів із 40 протестованих, що порівняно з 35 % тварин, які мають генотипи *AA* і *BB*, дає досить високу різницю між значеннями H_e та H_o , і, як наслідок, статистично значиму різницю дослідної і теоретичної вибірки з рівнем довірчої ймовірності $P=0,95$ за χ^2 .

Тиреоглобулін (*TG*) є глікопротеїновим гормоном, який синтезується у фолікулярних

клітинах щитовидної залози. Ген тиреоглобуліну розташований на 14-й хромосомі і має розмір 1068 п.н. Точкова заміна $C \rightarrow T$ у позиції 422 гена викликає появу двох алельних варіантів. Ген тиреоглобуліну розглядається як функціональний і позиційний ген-кандидат мармуровості м'яса. На підставі останніх QTL досліджень, проведених на молочних породах великої рогатої худоби, а також через вплив цього гена на жировий метаболізм вважається, що ген гормону тиреоглобуліну пов'язаний

Таблиця 2

Генетична структура популяції сірої української породи в ДП ДГ «Маркєсво» за генами *CSN3*, *β LG*, *TG5*, *CAPN1530* і *GH*, n=84
Genetic structure of the Ukrainian population of the gray breed in Experimental Field Markevevo State Enterprise by genes *CSN3*, *β LG*, *TG5*, *CAPN1530* and *GH*, n=84

Ген Gene	n	Генотип Genotype	Число генотипів Number of genotypes	Частота генотипів Genotype frequency	Частота алелів Allele frequency		H_o	H_e	χ^2
<i>CSN3</i>	84	AA	31	0,369	A	B	0,476	0,477	0,022
		AB	40	0,476	0,607	0,393			
		BB	13	0,155					
<i>TG5</i>	84	CC	26	0,310	C	T	0,571	0,482	2,65
		CT	48	0,571	0,595	0,405			
		TT	10	0,119					
<i>CAPN1530</i>	84	AA	0	0	A	G	0	0	—*
		AG	0	0	0	1,0			
		GG	84	1,0					
<i>βLG</i>	84	AA	3	0,036	A	B	0,452	0,387	1,994
		AB	38	0,452	0,262	0,738			
		BB	43	0,512					
<i>GH</i>	84	VV	0	0	V	L	0,036	0,035	8,46**
		VL	3	0,036	0,018	0,982			
		LL	81	0,964					

Примітка: * — математичне значення χ^2 в цьому випадку означає ∞ ; ** — $P=0,99$.

Note: * — mathematical meaning χ^2 in this case means ∞ ; ** — $P=0.99$.

Таблиця 3

Генетична структура популяції сірої української породи в ДП ДГ «Поливанівка» за генами *CSN3*, *TG5* і *CAPN1530*, n=40
Genetic structure of the Ukrainian population of the gray breed in Experimental Field Polyvanivka State Enterprise by genes *CSN3*, *TG5* and *CAPN1530*, n=40

Ген Gene	n	Генотип Genotype	Число генотипів Number of genotypes	Частота генотипів Genotype frequency	Частота алелів Allele frequency		H_o	H_e	χ^2
<i>CSN3</i>	40	AA	1	0,025	A	B	0,65	0,455	6,39*
		AB	26	0,65	0,35	0,65			
		BB	13	0,325					
<i>TG5</i>	40	CC	17	0,425	C	T	0,45	0,455	0,1
		CT	18	0,450	0,65	0,35			
		TT	5	0,125					
<i>CAPN1530</i>	40	AA	17	0,425	A	G	0,475	0,447	0,146
		AG	19	0,475	0,663	0,338			
		GG	4	0,100					

Примітка: * — $P=0,95$. / Note: * — $P=0.95$.

з молочною продуктивністю і якісним складом молока. Найбільш бажаним для введення селекції на основі молекулярно-генетичного аналізу є генотип *TT*.

Аналіз поліморфізму гену тиреоглобуліну показує, що розподіл алелів *C* і *T* в досліджених популяціях перебуває майже на однаковому рівні. Різниця частот алелів не перевищує 10 %, що вказує на генетичну спорідненість стад по цьому гену. Однак за генотипами спостерігається деяка відмінність. У стаді № 1 переважають корови з гетерозиготними генотипами (57,1 %), тоді як в стаді № 2, навпаки, більшість тварин гомозиготні (55 %). Але в обох популяціях не спостерігається статистично вірогідної різниці очікуваної та спостережуваної гетерозиготності.

Одним із маркерів якісної характеристики м'ясної продуктивності великої рогатої худоби є ген *CAPNI* (калпаїн). У кодуючій частині цього гена виявлено дві несинонімічні заміни, які приводили до змін амінокислотної послідовності в положеннях 316 (гліцин на аланін) і 530 (валін на ізолейцин). Для нуклеотидної послідовності це були заміни *C* на *G* і *A* на *G*. Бажаними формами, що забезпечують отримання м'яса підвищеної ніжності, є алелі *C316* і *G530*. Найбільший інтерес становлять тварини, гомозиготні за цими алелями.

Загалом для досліджених тварин характерна відсутність поліморфізму за геном калпаїну. Всі тварини були носіями гомозиготного генотипу за бажаним алелем *G* (1,0). Особливість генетичної структури дослідженої популяції за геном калпаїну унікальна, адже бугаї цієї популяції можуть стати найкращими поліпшувачами в селекції м'ясних порід ВРХ за характеристикою м'ясної продуктивності, а саме за ніжністю м'яса. Зовсім інші результати отримані при типуванні гену калпаїну в другому стаді.

В алельному спектрі гену проявляються обидва алелі (домінує алель *A* з частотою прояву 0,663). У популяції незначно переважають гомозиготні генотипи. Їх сумарна частота складає 57,5 %. Порівняння фактичного і теоретичного розподілу статистично невірогідне ($\chi^2=1,994$; $P<0,95$).

Для популяції корів господарства «Маркеєво» визначено алельний спектр ще для двох

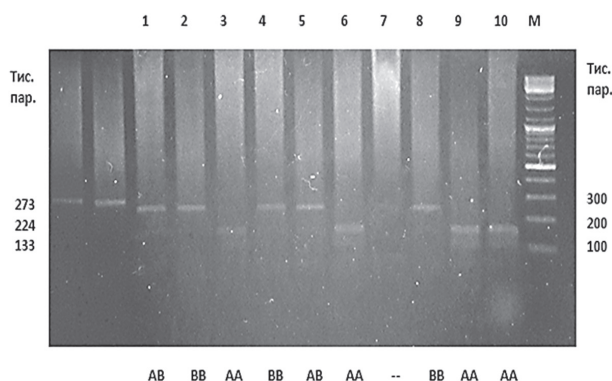


Рис. 1. Електрофореграма продуктів рестрикції гену капа-казеїну (рестриктаза *HindIII*) у тварин сірої української породи: доріжки: 3, 9, 10 — гомозиготні тварини з генотипом *AA* (133, 91, 49 п.н.); 1, 5 — гетерозиготні тварини з генотипом *AB* (224, 133, 91, 49 п.н.); 2, 4, 8 — гомозиготні тварини з генотипом *BB* (133, 91, 49 п.н.); *M* — маркер молекулярних мас. *DNALadder*, *GeneRuler*TM, 100 bp.

Fig. 1. Electrophoresis pattern of restriction of kappa-casein gene products division in animals of Grey Ukrainian breed (restriction endonuclease *HindIII*): tracks: 3, 9, 10 — homozygous animals with genotype *AA* (133, 91, 49 bp.); 1, 5 — heterozygous animals with genotype *AB* (224, 133, 91, 49 bp.); 2, 4, 8 — homozygous animals with genotype *BB* (133, 91, 49 p.n.); *M* — molecular weight marker. *DNALadder*, *GeneRuler*TM, 100 bp.

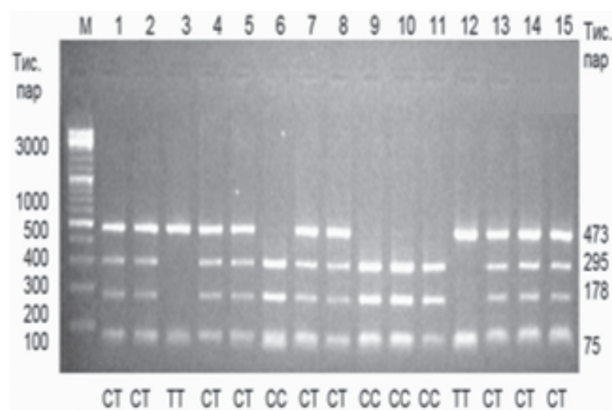


Рис. 2. Електрофореграма продуктів рестрикції гену тиреоглобуліну у тварин сірої української породи (рестриктаза *PvuI*): доріжки: 1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15 — гетерозиготні тварини з генотипом *CT* (75, 178, 295, 473 п.н.); 3, 12 — гомозиготні тварини з генотипом *TT* (75, 473 п.н.); 6, 8, 9, 10 — гомозиготні тварини з генотипом *CC* (75, 178, 295 п.н.); *M* — маркер молекулярних мас. *DNA Ladder*, *GeneRuler*TM, 100 bp.

Fig. 2. Electrophoresis pattern of restriction of thyroglobulin gene products division in animals of Grey Ukrainian breed (restriction endonuclease *PvuI*): tracks: 1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15 — heterozygous animals with genotype *CT* (75, 178, 295, 473 bp); 3, 12 — homozygous animals with genotype *TT* (75, 473 p.n.); 6, 8, 9, 10 — homozygous animals with genotype *CC* (75, 178, 295 p.n.); *M* — molecular weight marker. *DNALadder*, *GeneRuler*TM, 100 bp.

генів за господарсько-корисними ознаками — бета-лактоглобуліну та гормону росту.

По гену *βLG* з 84 корів лише три тварини мали генотип *AA* (відповідає за синтез білка *A* бета-лактоглобуліну), 38 корів — генотип *AB* (неповне домінування, при якому синтезується бета-лактоглобуліновий білок, що характеризується проміжними властивостями і поєднує

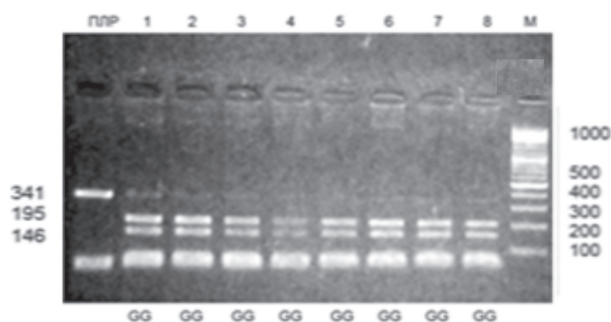


Рис. 3. Електрофореграма продуктів рестрикції гену калпаїну у тварин сірої української породи (рестриктаза *PsyI*): доріжки 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 — гомозиготні тварини з генотипом *GG* (146,195 п.н.); *M* — маркер молекулярних мас. *DNA Ladder, GeneRuler™*, 100 bp.

Fig. 3. Electrophoresis pattern of restriction calpain gene products division in animal Ukrainian grey breed (restriction endonuclease *PsyI*): tracks: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 — homozygous animals with genotype *GG* (146,195 bp); *M* — marker of molecular weight. *DNA Ladder, GeneRuler™*, 100 bp.

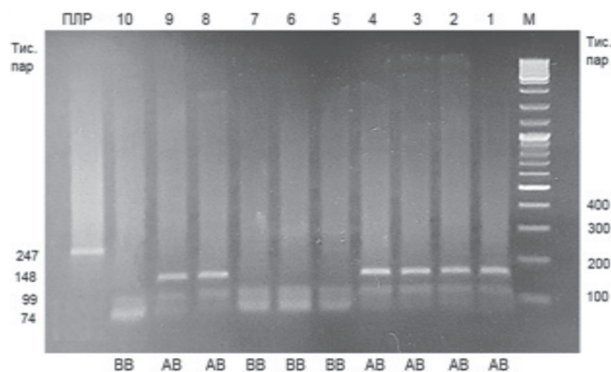


Рис. 4. Електрофореграма продуктів рестрикції гену бета-лактоглобуліну (рестриктаза *HaeIII*) у тварин сірої української породи: доріжки: 1, 2, 3, 4, 8, 9 — гетерозиготні тварини з генотипом *AB* (148, 99, 74 п.н.); 5, 6, 7, 10 — гомозиготні тварини з генотипом *BB* (99, 74 п.н.); *M* — маркер молекулярних мас. *DNA Ladder, GeneRuler™*, 100 bp.

Fig. 4. Electrophoresis pattern restriction of beta-lactoglobulin gene products division in animals of Grey Ukrainian breed (restriction endonuclease *HaeIII*): tracks: 1, 2, 3, 4, 8, 9 — heterozygous animals with genotype *AB* (148, 99, 74 bp); 5, 6, 7, 10 — animal homozygous with genotype *BB* (99, 74 bp); *M* — molecular weight marker. *DNA Ladder, GeneRuler™*, 100 bp.

властивості варіантів *A* і *B* білків бета-лактоглобуліну) і 43 корови — генотип *BB* (відповідає за експресію білка *B* бета-лактоглобуліну). Алель *B* виявляється у корів сірої породи втричі частіше, ніж алель *A*. Встановлено переважання генотипу *BB* (0,512). Але відхилення емпіричного розподілу частот генотипів від теоретичного незначне, що вказує на те, що в популяції великої рогатої худоби ДП ДГ «Маркеєво» немає статистично вірогідного зсуву генетичної рівноваги по жодному з трьох генотипів локусу гена бета-лактоглобуліну.

Для великої рогатої худоби європейської селекції відомо 4 алельні варіанти гену гормону росту (соматотропіну). Нуклеотидна заміна в 127 позиції поліпептидного ланцюга кодону *Leu* (*CTG*) на *Val* (*GTG*) зумовлює появу алельних варіантів *L* і *V*, асоційованих з певними ознаками продуктивності великої рогатої худоби: алель *L* — з високою молочною, *V* — високою м'ясною продуктивністю [2]. Результати аналізу поліморфізму гену *GH*, наведені у табл. 2, вказують на відсутність у вивчених вибірках тварин з генотипом *VV*, низькою часткою гетерозигот (0,036) і високою часткою гомозигот по *L*-алелю (0,964). Отримані дані досить тісно корелюють з показниками частот алелів *V* і *L* та відповідних їм генотипів костромської породи [11]. Спостерігається вірогідна відмін-

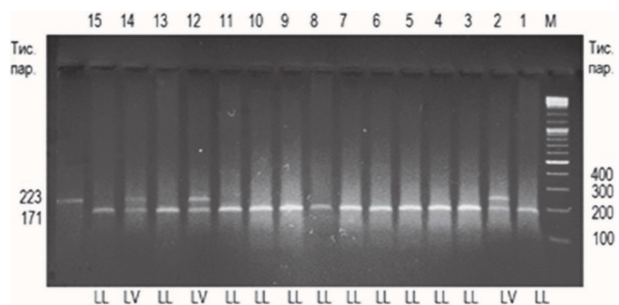


Рис. 5. Електрофореграма продуктів рестрикції гену гормону росту у тварин сірої української породи (рестриктаза *AluI*): доріжки: 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15 — гомозиготні тварини з генотипом *LL* (171 п.н.); 2, 12, 14 — гетерозиготні тварини з генотипом *LV* (223, 171 п.н.); *M* — маркер молекулярних мас. *DNA Ladder, GeneRuler™*, 100 bp.

Fig. 5. Electrophoresis pattern restriction gene products division growth hormone animal Ukrainian grey breed (restriction endonuclease *AluI*): Tracks: 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15 — genotype homozygous animals with *LL* (171 bp.); 2, 12, 14 — genotype heterozygous animals with *LV* (223, 171 bp); *M* — marker of molecular weight. *DNA Ladder, GeneRuler™*, 100 bp.

ність дійсного і теоретичного розподілу частот генотипів ($\chi^2=8,46$; $P>0,99$).

Висновки

Вивченням та порівнянням генетичного поліморфізму генів *CSN3*, *TG* та *CAPN1530* двох популяцій української сірої породи встановлено:

1. За геном капа-казеїну виявлено переважання генотипу *AB* при прямо протилежному розподілі частот алелів *A* і *B*.

2. За геном тиреоглобуліну простежується подібний розподіл алелів *C* і *T*. Встановлено переважання генотипу *CT* у тварин стада № 1 і надлишок гомозигот у корів стада № 2.

3. За геном калпаїну в стаді № 1 всі тварини були носіями гомозиготного генотипу за алелем *G*. В алельному спектрі тварин другого стада домінує алель *A* та його гомозиготний генотип.

За геном бета-лактоглобуліну встановлено значне переважання алеля *B*, який виявляється у 3 рази частіше, ніж алель *A*, що зумовлює найбільшу частоту прояву генотипу *BB* (0,512).

За геном гормону росту виявлено значне переважання генотипу *LL* (0,964) і, відповідно, алелю *L* (0,982), та відсутність генотипу *VV*.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати можуть бути використані для поліпшення інших порід за корисно-господарськими ознаками, які контролюються генами *CAPN1530 GH*, *CSN3*.

1. Babenko H. I. Relations of somatotropin hormone in ukrainian black and white dairy cattle breed and its association with productivity traits. *Animal Breeding and Genetics*, 2015, no. 49, pp. 148–153. (in Ukrainian)

2. Balackij V. N. Genetic polymorphism of somatotropina Association and its alleles with quantitative traits of animals. *Agricultural biology*, 1998, no. 4, pp. 43–53. (in Ukrainian)

3. Bovenhuis H., Van Arendonk J. A. M., Korver S. Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. *J. Dairy Sci.*, 1992, no. 75, pp. 2549–2559.

4. Dybus A., Grzesiak W., Kamieniecki H., Szatkowska I., Sobek Z., Blaszczyk P., Czerniawska-Piatkowska E., Zych S., Muszynska M. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk produc-

tion traits of Black-and-White and Jersey cattle. *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 2005, vol. 48, no. 2, pp. 149–156.

5. Eggena Fries R. Die Untersuchung von Kaseinogenmitteln DNA-Analyse. *ETH Lan-dwirtschaft Schwab Band*, 1992, pp. 231–235.

6. Grodziker T. Physical mapping of temperature-sensitive mutations of adenoviruses. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1974, vol. 39, pp. 439–446.

7. Kharytonova S. N., Hlazko T. T., Kuznetsova O. V. *State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture*. Moscow, Rome, FAO, 2010, 512 p. (in Russian)

8. Khatamy S. R., Lazebnyy O. E., Maksymenko V. F., Sulymova H. E. DNA gene polymorphism of growth hormone and prolactin in the Yaroslavl and black-motley cattle in connection with milk production. *Genetics*, 2005, vol. 42, no. 2, pp. 229–236. (in Russian)

9. Kopylova K. V., Kopylov K. V., Tarasiuk S. I., Metlitska O. I. Polymorphisms of genes associated with economically useful traits in cattle. *Journal of Agricultural Science*, 2006, no. 10, pp. 52–58. (in Ukrainian)

10. Kurak O. P., Gandga A. I., Gurina N. V., Letkevich L. L., Simonenko V. P., Kovalchuk M. A., Kirillova I. V. Monitoring cattle Belarusian black-motley breed on the loci of economically significant traits. *Animal Breeding and Genetics*, 2014, no. 48, pp. 194–202. (in Ukrainian)

11. Perchun A. V., Lazebnaya I. V., Belokurov S. G., Ruzina M. N., Sulimova G. E. Polymorphism of genes *CSN3*, *bPRL I bGHu* cows of Kostroma breed in connection with the performance of milk production. *Basic research*, 2012, no. 11–2, pp. 304–308. (in Russian)

12. Sheremeta V. I. Genetic diversity of species in Ukraine FAO report. *Preservation of the gene pool of animals: Materials creative discussions*. Kyiv, Agricultural science, 2007, pp. 90–96. (in Ukrainian)

13. Stolpovskaya O. V., Stolpovskiy Yu. A., Godovanets L. V. A comparative study of polymorphism of proteins Ukrainian gray breed. *Cytology and Genetics*, Kyiv, 1992, no. 26 (5), pp. 11–17. (in Ukrainian)

14. Suprovich T. M., Kopylov K. V. Determination of DNA markers in susceptible and resistant to mastitis cows Ukrainian black and white dairy cattle. *Animal Breeding and Genetics*, 2014, no. 48, pp. 214–223. (in Ukrainian)

15. Zinoveva N. A. Sample preparation, DNA extraction and optimization PCR analysis. *Methods of research in biotechnology livestock: School-Workshop*, VIJ, 2002, pp. 33–45. (in Russian)

16. Zinoveva N. A., Kostunica O. V., Gladyr E. A. DNA diagnostics polymorphisms gene-proteins of milk bovine. *Methods of research in biotechnology livestock*. Moscow, 2004, pp. 7–22. (in Russian)

17. Zubets M. V., Burkat V. P., Huzyev I. V. Solving the problem of maintaining genetic diversity in livestock of Ukraine. *Journal of Agricultural Science*, 2008, no. 12, pp. 7–10. (in Ukrainian)