

УДК 636.082 : 575.113

Копилов К.В., канд. наук, **Бірюкова О.Д.**, канд. с.-г. наук ©
e-mail: kopylkir@ukr.net

Інститут розведення і генетики тварин НААН України, с. Чубинське Київської обл

ХАРАКТЕРИСТКА ТВАРИН УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО – РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ ЗА ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ (QTL)

Досліджено генетичну структуру популяції української чорно – рябої молочної породи за генами, що асоційовані з господарсько корисними ознаками (CSN3, BLG, GH, LEP, Pit 1). Вивчено зв'язок цих генів з молочною продуктивністю. Розподіл алельних варіантів досліджуваних генів демонструє особливості продуктивних ознак тварин української чорно-рябої молочної породи.

Ключові слова: MAS-селекція, генотип, українська чорно-ряба молочна порода, популяція.

Вступ. В даний час, завдяки досягненням молекулярної генетики, відкрилась можливість аналізу генів, які прямо чи опосередковано пов'язані з господарсько корисними ознаками сільськогосподарських тварин. Виявлення бажаних варіантів таких генів дозволить додатково до традиційного відбору тварин проводити селекцію за генотипом безпосередньо на рівні ДНК. Отримано дані щодо зв'язку між вмістом білка в молоці та генотипом тварин за генами капа-казеїну, бета-лактоглобуліну, гормону росту, які впливають на якісний склад молока [1].

Селекція, що базується безпосередньо на аналізі дії окремих генів, точкових мутацій (SNPs), локусів кількісних ознак та зчеплених з ними генів отримала назву селекції з допомогою маркерів (Marker Assisted Selection – MAS), методологія якої передбачає першочергову ідентифікацію фрагментів генома, а вже надалі – дослідження ознак, що визначаються тим чи іншим фрагментом. Саме такий підхід створив підґрунтя для впровадження і практичної реалізації геномної селекції в країнах з розвинутим тваринництвом.

Розвиток тваринництва України потребує впровадження нових методів та підходів, які базуються безпосередньо на аналізі спадкової інформації на рівні генів чи груп зчеплення генів, в основі яких лежить використання поліморфізму ДНК для виявлення специфічних послідовностей (генна діагностика, ДНК - діагностика) [2], яка дає можливість з одного боку управляти генетичною структурою популяції, з іншого – проводити аналіз генотипу тварин на рівні генів, асоційованих в тому числі і з господарсько корисними ознаками. Такі локуси отримали назву локусів кількісних ознак QTL - Quantitative Trait Loci's [3, 4, 5, 6, 7, 8].

Впровадження в тваринництво селекції за допомогою маркерів відкриває можливості подальшого підвищення ефекту селекції, в першу чергу за рахунок підвищення точності оцінки генетичного потенціалу тварини [9, 10].

Метою досліджень було вивчити генетичну структуру популяції української чорно-рябої молочної породи за генами, асоційованими з господарсько корисними ознаками, та зв'язок цих генів з молочною продуктивністю.

Матеріал і методи. Оцінку поліморфізму генів капа-казеїну (CSN3), бета-лактоглобуліну (BLG), гормону росту (GH), гіпофізарно-специфічний фактор транскрипції (Pit 1), лептину (LEP) проводили за методом ПЛР-ПДРФ на зразках отриманих від тварин української чорно – рябої молочної породи з господарств ТОВ «Агрофірма Київська» та СВК ім. Щорса. Виділення ДНК проводили з використанням стандартного комерційного набору «ДНК-сорб В» виробництва «Амплісенс» згідно з рекомендаціями виробника. Концентрацію ДНК перевіряли шляхом електрофорезу в 2% агарозному гелі. Для ампліфікації фрагменту гена κ -Сп використовували наступні праймери: 5' GAAATCCSTACCATCAATACC-3' та 5' CCATCTACSTAGTTTAGATG-3'. Для ампліфікації фрагменту гена β LG використовували праймери: 5'TGTGCTGGACACCGACTACAAAAAG-3'; 5'GCTCCCGGTATATGACCACCCTCT-3'. Для ампліфікації фрагменту гена LEP використовують наступні праймери: 5' - GTCACCAGGATCAATGACAT-3'; 5' - AGCCCAGGAATGAAGTCCAA-3'. Для ампліфікації фрагменту гена GH використовували наступні праймери: 5' - GCTGCTCCTGAGGGCCCTTC-3'; 5' - GCGGCGGCACTTCATGACCC-3'. Для ампліфікації фрагмента гена PIT-1 використовували наступні праймери: 5'-CAATGAGAAAGTTGGTGC-3'; 5'-TCTGCATTCGAGATGCTC-3'. Для аналізу поліморфізму структурних генів використовували рестриктази, підібрані до кожного гену: CSN3 - Hind III, BLG - Hae III, GH - AluI, PIT-1 - HinfI, LEP – Sau3AI.

Результати дослідження. Первістки у частині популяції УЧР, яка досліджувалась, мають високу молочну продуктивність (пересічно, надій - 6206 ± 139 кг молока, вміст жиру та білка в молоці - $3,61 \pm 0,02$ % та $3,12 \pm 0,01$ % відповідно). Було встановлено генетичну структури популяції за генами, що асоційовані з молочною продуктивністю (табл. 1). За геном CSN3 частота алельного варіанта А, що асоційований з підвищеним надоем, значно вища, ніж частота алелю В. Алельний варіант В-гена CSN3, асоційований із високим вмістом білка в молоці та кращими технологічними показниками для виробництва твердих сирів [11]. На даний час, в генетичній селекції за цим геном алель В вважається бажаним [12]. Але у дослідженій популяції частота цього алелю знаходиться на низькому рівні (0,18). Натомість за геном GH частота бажаного [12] алелю L (0,78) була вище, ніж частота алельного варіанту V (0,22). Генетична структура досліджуваної частини популяції УЧР за генами CSN3 і GH відображає картину, що є характерною для деяких молочних порід [11]. Частота алеля А за геном BLG становила 0,368, а В-алельного варіанта – 0,632. Відомо, що перший є бажаним та асоційований із високими надоями молока, а другий – із високим вмістом казеїнових білків та підвищеним вмістом жиру в молоці корів [11]. Слід відмітити збалансованість популяції за геном PIT 1. Частоти алельних варіантів подібні. За геном LEP спостерігали значні відмінності між частотами алельних варіантів (А – 0,788, В – 0,212, відповідно).

Таблиця 1

Генетична структура популяції УЧР за генами CSN3, BLG, GH, PIT 1 і LEP

Ген	Частота генотипів			Частота алелів	
	генотип	n	частота	алель	частота
CSN3	CSN3 ^{AA}	83	0,664	A	0,82
	CSN3 ^{AB}	39	0,312	B	0,18
	CSN3 ^{BB}	3	0,024		
GH	GH ^{LL}	77	0,616	L	0,78
	GH ^{LV}	41	0,328	V	0,22
	GH ^{VV}	7	0,056		
BLG	BLG ^{AA}	10	0,08	A	0,368
	BLG ^{AB}	72	0,576	B	0,632
	BLG ^{BB}	43	0,344		
PIT 1	PIT 1 ^{AA}	24	0,192	A	0,436
	PIT 1 ^{AB}	61	0,488	B	0,564
	PIT 1 ^{BB}	40	0,32		
LEP	LEP ^{AA}	77	0,616	A	0,788
	LEP ^{AB}	43	0,344	B	0,212
	LEP ^{BB}	5	0,04		

Нами було проведено дослідження зв'язку генів CSN3, BLG, GH, PIT 1 і LEP з ознаками молочної продуктивності (табл. 2). За геном CSN3 вірогідна різниця була встановлена між генотипами CSN3^{AA} та CSN3^{AB} за всіма показниками молочної продуктивності. Оскільки тварин з генотипом CSN3^{BB} виявлено дуже мало, вірогідної різниці не було встановлено. За геном GH слід відмітити тварин з генотипом GH^{LL}. Вони відрізнялись більшим рівнем надою та білковомолочності. За геном BLG тварини гомозиготні за алелем B мали високий рівень надою, а гомозиготні за алелем A більший вміст жиру в молоці.

Таблиця 2

Вплив різних алельних варіантів генів CSN3, BLG, GH, PIT 1 і LEP на молочну продуктивність первісток УЧР

Генотип	К-сть голів	Продуктивність				
		Надій, кг	Жир, %	Жир, кг	Білок, %	Білок, кг
CSN3 ^{AA}	83	6584±166 ^a	3,58±0,02 ^e	234,7±5,7 ^e	3,09±0,01 ⁱ	203,1±4,9 ^k
CSN3 ^{AB}	39	5500±211 ^b	3,68±0,03 ^d	202,2±7,7 ^h	3,16±0,03 ^j	172,4±5,8 ^l
CSN3 ^{BB}	3	4942±998	3,7±0,12	185±43,9	3,27±0,17	157,9±28,7
GH ^{LL}	77	6236±166	3,62±0,02	224,7±5,5	3,12±0,01	193,5±4,8
GH ^{LV}	41	6171±273	3,59±0,03	221,2±9,8	3,12±0,02	191,1±8
GH ^{VV}	7	6088±563	3,66±0,08	222,2±20,2	3,11±0,06	188,2±15,3
BLG ^{AA}	10	6063±589	3,7±0,06	221,8±19,1	3,09±0,02	186,8±17,7
BLG ^{AB}	72	6119±176	3,6±0,03	219,7±6,1	3,12±0,02	190±5,1
BLG ^{BB}	43	6387±242	3,61±0,03	229,9±8,4	3,12±0,02	197,8±6,8
PIT 1 ^{AA}	24	6328±299	3,62±0,03	228,3±10,2	3,1±0,02	195,7±9,1
PIT 1 ^{AB}	61	6204±205	3,6±0,03	222,5±7,1	3,12±0,01	191,7±5,7
PIT 1 ^{BB}	40	6138±245	3,63±0,03	221,7±8,5	3,14±0,02	191,6±7,4
LEP ^{AA}	77	6235±174	3,58±0,02 ^e	222,3±5,9	3,12±0,02	193,5±5,0
LEP ^{AB}	43	6169±246	3,65±0,03	224,4±8,6	3,12±0,02	191,0±7,1
LEP ^{BB}	5	6094±760	3,8±0,09 ^f	230,6±28,3	3,08±0,04	188,1±24,1
Всього	125	6206±139	3,61±0,02	223,4±4,8	3,12±0,01	192,4±4

Примітка. a,b, g,h, k:l – P < 0,001, d:c – P < 0,01, f:e – P < 0,02, j:i – P < 0,05 (критерій Стьюдента). В цій таблиці різні суперскрипти в межах однієї колонки вказують на вірогідну різницю між показниками.

За геном LEP спостерігали вірогідну різницю за вмістом жиру в молоці між групами тварин з генотипами LEP^{AA} та LEP^{BB}, а між LEP^{AA} та LEP^{AB} різниця наближалась до вірогідної. Слід відмітити тварин з генотипом LEP^{AA}. Вони мали високий рівень надою. За геном PIT 1 тварини гомозиготні за алелем А мали високий рівень надою, а гомозиготні за алелем В-більший вміст білка в молоці.

Висновки. Таким чином, розподіл алельних варіантів генів, що асоційовані з господарсько корисними ознаками, демонструє особливості продуктивних ознак тварин української чорно-рябої молочної породи. Ці гени можуть виступати в ролі маркерів у селекційній роботі з вітчизняними молочними породами.

Література

1. Patel, R. K. Allelic frequency of kappa-casein and beta-lactoglobulin in Indian crossbred (*Bos taurus*×*Bos indicus*) dairy bulls / R. K. Patel, J. B. Chauhan, K. M. Singa, K. J. Soni // *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* – 2007. – Vol. 31. – No. 6. – P. 399-402.
2. Словарь терминов по биотехнологии для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства [А. Заид, Х. Г. Хьюз, Э. Порчедду, Ф. Николас] / Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций, Рим, 2008. – С. 395.
3. A genome scan to detect quantitative trait loci for economically important traits in Holstein cattle using two methods and a dense single nucleotide polymorphism map / H. D. Daetwyler, F. S. Schenkel, M. Sargolzaei [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2008. – Vol. 91, № 8. – P. 3225—3236.
4. Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health, and reproductive traits in Holstein cattle / M. S. Ashwell, D. W. Heyen, T. S. Sonstegard [et al.] // *Journal of dairy science.* – 2004. – Vol. 87, № 2. – P. 468—475.
5. Effect of quantitative trait loci for milk protein percentage on milk protein yield and milk yield in Israeli Holstein dairy cattle / E. Lipkin, R. Tal-Stein, A. Friedmann [et al.] // *Journal of dairy science.* – 2008. – Vol. 91, № 4. – P. 1614—1627.
6. Lipkin E. Expected effects on protein yield of marker-assisted selection at quantitative trait loci affecting milk yield and milk protein percentage / E. Lipkin, A. Bagnato, M. Soller // *Journal of dairy science.* – 2008. – Vol. 91, № 7. – P. 2857—2863.
7. Quantitative trait loci affecting milk production traits in Finnish Ayrshire dairy cattle / S. M. Viitala, N. F. Schulman, D. J. de Koning [et al.] // *Journal of dairy science.* – 2003. – Vol. 86, № 5. – P. 1828—1836.
8. Quantitative trait loci affecting milk yield and protein percentage in a three-country brown swiss population / A. Bagnato, F. Schiavini, A. Rossoni [et al.] // *Journal of dairy science.* – 2008. – Vol. 91, № 2. – P. 767—783.
9. Dalgleish D. G. Bovine milk protein properties and the manufacturing quality of milk / D. G. Dalgleish // *Livestock production science.* – 1992. – Vol. 35. – P. 75—93.

10. The Use of Genetic Markers to Measure Genomic Response to Selection in Livestock L. Gomez-Raya, H. Gro Olsen, F. Lingaas [et al.] // *Genetics*. – 2002. – Vol. 162, № 3. – P. 1381—1388.

11. Kaminski S. Kappa-casein genotyping of Polish Black-and-White x Holstein-Friesian bulls by polymerize chain reaction / S. Kaminski, L. Figiel // *Genetica Polonica*. – 1993. – Vol. 34. – P.65—72.

12. Зиновьева Н.А. Использование молекулярно-генетической информации в животноводстве / Н.А. Зиновьева, Л.К. Эрнст // *Достижения в генетике, селекции и воспроизводстве сельскохозяйственных животных* / *Материалы меж. наук. конф., Ч.2.* – СПб. ВНИИГРЖ, 2009. – С.3-7.

Summary

The genetic structure of population of Ukrainian Black-and-White Dairy breed by genes which are associated with economically useful signs (CSN3, BLG, GH, LEP, Pit 1). Communication of these genes is trained with dairy productivity. Distributing of allelic variants of these genes demonstrates the features of productive signs of animals of the Ukrainian Black-and-White Dairy breed.

Стаття надійшла до редакції 16.04.2010