

## ОЦІНКА ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ТИРЕОГЛОБУЛІНУ В РІЗНИХ ПОРІД ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ МОЛОЧНОГО ТА М'ЯСНОГО НАПРЯМУ ПРОДУКТИВНОСТІ

*О. В. Березовський, аспірант\*,  
М. Л. Добрянська, кандидат сільськогосподарських наук  
Інститут розведення і генетики тварин НААН України*

*Проведено молекулярно-генетичний аналіз трьох молочних та п'яти м'ясних українських порід великої рогатої худоби за геном тиреоглобуліну з використанням методу ПЛР-ПДРФ (поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів).*

*У досліджених популяціях тварин, що належать до п'яти м'ясних порід великої рогатої худоби, частота алеля Т в чотирьох із них була значно вищою, ніж у популяціях молочних порід. Лише у тварин породи герефорд спостерігалася низька частота алеля Т, що становила 0,113 і була нижчою, ніж у тварин української червоно-рябої молочної породи (0,120) та не спостерігалася достовірної різниці між частотою алеля Т, порівняно з трьома молочними породами. Низька частота алеля Т гена TG у популяціях великої рогатої худоби, що належать до порід молочного напрямку продуктивності, порівняно з частотою цього алеля в популяціях м'ясних порід великої рогатої худоби, може свідчити про вплив добору тварин певного напрямку селекції ВРХ на зміну частоти алеля Т.*

***ВРХ, молочні породи, м'ясні породи, поліморфізм, локуси кількісних ознак, тиреоглобулін.***

*Із впровадженням і вдосконаленням нових методів молекулярної генетики останніми десятиліттями, з'явилася можливість оцінювати зміни на рівні ДНК, які можуть впливати на показники продуктивності у великої рогатої худоби, доповнюючи ряд інших факторів, що мають відношення до формування ознак, які визначають продуктивність ВРХ. Тому за даними оцінки поліморфізму генів кількісних ознак (QTL), традиційні методи селекції можна вдосконалювати, використовуючи інформацію про наявність змін на рівні генів, що здатні впливати на прояв певної господарсько-цінної ознаки [5].*

---

\*Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук К. В. Копилов

© О. В. Березовський, М. Л. Добрянська, 2014

Одним із ефективних підходів до оцінки інтенсивності й спрямованості ліпідного обміну для подальшого відбору тварин за пов'язаними з ним ознаками є використання ДНК-маркерів [9]. Існує потреба в сучасних методах оцінки схильності тварин до утворення характерної м'ясопродуктивності та підвищення жиру в молоці [1].

До генів кількісних ознак, пов'язаних із ліпідним обміном, належить ген тиреоглобуліну (TG). Його білковий продукт – тиреоглобулін – глікопротеїновий гормон, який синтезується у фолікулярних клітинах щитовидної залози. Він є попередником трийодтироніну (Т3) та тетраіодтироніну (Т4), які беруть участь у рості жирових клітин, їх диференціації та гомеостазі жирових відкладень. Ген тиреоглобуліну розташований на 14 хромосомі і має розмір 1068 п.н. Точкова заміна С→Т у позиції 422 гена тиреоглобуліну викликає появу двох алельних варіантів [4, 2, 6].

У дослідженнях закордонних та вітчизняних авторів визначено вплив поліморфізму тиреоглобуліну на м'ясопродуктивність м'яса у великої рогатої худоби м'ясних порід [3].

Для популяції великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності характерна достатньо висока частота бажаного алеля Т. Наприклад, для породи абердин-ангус частота алеля Т встановлена на рівні 0,240; симентальської породи – 0,400; сірої української – 0,405 [8]. У дослідженнях, проведених у РФ, де вивчався вплив поліморфізму тиреоглобуліну на ліпідний обмін у тварин, у корів з генотипами СС, що належали до деяких російських порід, спостерігалася тенденція до збільшення вмісту білка і жиру в молоці, порівняно з носіями генотипу СТ [10]. В іншому дослідженні, проведеному з російськими породами, навпаки, було показано достовірно вищі показники жирномолочності у корів, що є носіями генотипу СТ, ніж із генотипом СС [7]. Результати різних досліджень є суперечливими й потребують подальших досліджень у цьому напрямі.

**Мета досліджень** – оцінити поліморфізм гена тиреоглобуліну у великої рогатої худоби різних порід молочного та м'ясного напрямку продуктивності.

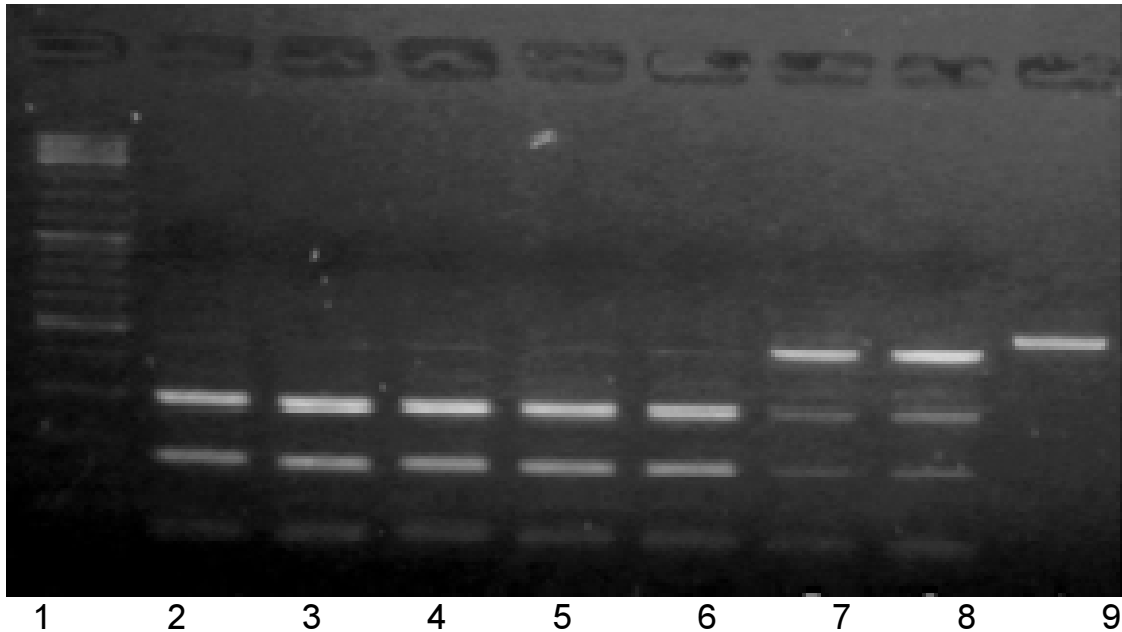
**Матеріали та методи досліджень.** Оцінку поліморфізму гена TG проводили методом ПЛР-ПДРФ на зразках ДНК, виділених із крові 171 тварини молочних порід та 191 тварини м'ясних порід великої рогатої худоби, серед яких були зразки української червоно-рябої молочної породи: ДП ДГ “Христинівське” Інституту розведення і генетики тварин НААН України (Черкаська обл.) (36 гол.), ПГ “Свято-Успенської Києво-Печерської лаври” “Вороньківське” (Київська обл. Бориспільський р-н.) (27 гол.), ТОВ “Крок-Укрзалізбуд” (30 гол.); української чорно-рябої молочної породи із ЗАТ «Агро-Регіон» (Київська обл., Бориспільський р-н.) (40 гол.) та української червоної молочної породи ВАТ “Партизан” (АР Крим, с. Журавлівка) (38 гол.). Тварин м'ясних порід відбирали з різних господарств: породи шароле (33 гол.), породи герефорд (31 гол.) (ПрАТ “Агрофорт”, Київська обл.); української м'ясної породи (22 гол.), сірої української породи (84 гол.) (ДП “ДГ” “Маркеєво”, Херсонська обл.); породи абердин-ангус (21 гол.) (ТОВ “Агрикор-холдинг”, Чернігівська обл.).

Для ампліфікації гена *TG* було використано праймери:

5'-GGGGATGACTACGAGTATGACTG-3',

5'-GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGT-3'.

Довжина ампліфікованого фрагмента – 548 п.н. [5] Для виявлення алельних варіантів С і Т гена *TG* використовували рестриктазу *PsuI*. У тварин, носіїв генотипу СС три сайти рестрикції, з фрагментами завдовжки 295 п.н., 178 п.н., 75 п.н., у ТТ два сайти рестрикції, з фрагментами завдовжки 473 п.н., 75 п.н., а СТ мають довжину фрагментів 473 п.н., 295 п.н., 178 п.н., 75 п.н. (див. рисунок.)



Продукти рестрикції гена *TG*

Доріжки: 1 – маркер молекулярних мас DNA Ladder; 2–6 – тварини з генотипом СС; 7,8 – тварини з генотипом СТ; 9 – ПЛР продукт, 548 п.н.

Статистичне опрацювання даних здійснювали за стандартними методиками [11] з використанням програмного забезпечення MS Excel, STATISTICA 10.

**Результати досліджень.** За результатами проведеного дослідження було прогенотиповано стада молочних порід (українська червоно-ряба молочна, українська чорно-ряба молочна та українська червона молочна), встановлено частоти алелів гена *TG* у досліджених популяціях.

У тварин, відібраних з трьох господарств, що належали до української червоно-рябої молочної породи, переважали тварини з генотипами СС гена *TG*. Частота алеля С – 0,88. Виявлена тільки одна гомозигота ТТ. Індекс фіксації Райта був від'ємним, що вказує на надлишок гетерозигот у дослідженій популяції тварин.

Серед тварин української чорно-рябої молочної породи племзаводу ЗАТ “Агро-регіон” частота алеля С була найвищою і становила 0,938; частота алеля Т – 0,062. Не було виявлено жодної гомозиготи ТТ. Фактична ( $H_0$ ) гетерозиготність переважала над очікуваною гетерозиготністю ( $H_E$ ).

У дослідженому стаді української червоної молочної породи ВАТ “Партизан” також спостерігалася низька частота алеля Т гена *TG* на рівні 0,092 і були відсутні гомозиготи ТТ, частота алеля С становила 0,908. Фактична гетерозиготність у даній групі тварин перевищувала очікувану гетерозиготність (табл. 1).

### 1. Розподіл алельних варіантів гена *TG* у корів українських молочних порід

Порода	n	Частота генотипів	Частота алелей	$H_E$	$H_0$	Індекс фіксації Райта (Fis)	$\chi^2$
Українська червоно-ряба молочна	93	CC-0,740	C-0,880	0,211	0,250	-0,184	0,93
		CT-0,250	T-0,120				
		TT-1					
Українська чорно-ряба молочна	40	CC-0,875	C-0,938	0,116	0,125	-0,075	0,18
		CT-0,125	T-0,062				
		TT-0					
Українська червона молочна	38	CC-0,816	C-0,908	0,167	0,184	-0,101	0,39
		CT-0,184	T-0,062				
		TT-0					

Примітка.  $H_E$  – очікувана гетерозиготність,  $H_0$  – фактична гетерозиготність.

### 2. Розподіл алельних варіантів гена *TG* у корів українських м'ясних порід

Порода	n	Частота генотипів %	Частота алелей %	$H_E$	$H_0$	Індекс фіксації Райта (Fis)	$\chi^2$
Сіра українська	84	CC-0,309	C-0,595	0,483	0,571	-0,183	2,91
		CT-0,571	T-0,404				
		TT-0,119					
Українська м'ясна	22	CC-0,409	C-0,591	0,483	0,364	0,247	1,34
		CT-0,364	T-0,409				
		TT-0,227					
Шароле	33	CC-0,697	C-0,833	0,278	0,273	0,018	0,01
		CT-0,300	T-0,167				
		TT-0,033					
Геррефорд	31	CC-0,774	C-0,887	0,200	0,226	-0,127	0,50
		CT-0,226	T-0,113				
		TT-0					
Абердин-ангус	22	CC-0,571	C-0,785	0,338	0,428	-0,226	1,56
		CT-0,429	T-0,215				
		TT-0					

Примітка.  $H_E$  – очікувана гетерозиготність,  $H_0$  – фактична гетерозиготність.

У досліджених популяціях тварин, що належать до п'яти м'ясних порід великої рогатої худоби, частота алеля Т у чотирьох із них була значно вищою, ніж у популяціях молочних порід. Лише у тварин породи геррефорд спостерілася низька частота алеля Т, що становила 0,113 (табл. 2).

У популяціях тварин сірої української породи, породи геррефорд та абердин-ангуської породи індекс фіксації Райта був від'ємним, що свідчить про надлишок гетерозигот у досліджених популяціях.

Не було достовірної різниці між частотами алеля Т гена тиреоглобуліну в досліджених популяціях трьох молочних порід та породи геррефорд, між популяціями породи шароле та української червоної молочної породи, між абердин-ангус та українською червоно-рябою породами. У всіх інших випадках спостерігалася достовірно вища частота алеля Т у м'ясних порід, порівняно з молочними породами (табл. 3).

### 3. Достовірність різниці частот алелей за геном тиреоглобуліну між дослідженими стадами молочних і м'ясних порід, розраховані за методом Фішера

Молочні породи	М'ясні породи				
	Сіра українська	Українська м'ясна	Шароле	Геррефорд	Абердин-ангус
Українська червоно-ряба молочна	P<0,01*	P<0,01*	P<0,05*	P>0,05	P>0,05
Українська чорно-ряба молочна	P<0,01*	P<0,01*	P<0,05*	P>0,05	P<0,05*
Українська червона молочна	P<0,01*	P<0,01*	P>0,05	P>0,05	P<0,05*

Примітка. \*Достовірна різниця між частотами алелей (P<0,01; P<0,05).

### Висновки

1. У результаті проведених досліджень було встановлено особливості генетичної структури за двома алельними варіантами гена TG порід великої рогатої худоби молочного та м'ясного напрямку продуктивності.

2. Низька частота алеля Т гена TG у популяціях великої рогатої худоби, що належать до порід молочного напрямку продуктивності, порівняно з частотою цього алеля в популяціях м'ясних порід великої рогатої худоби, може свідчити про вплив добору тварин певного напрямку селекції ВРХ на зміну частоти алеля Т, оскільки він впливає на прояв ознаки мармуровості м'яса і є бажаним саме для м'ясних порід.

### Список літератури

1. Assessing lipid metabolism. Patent. International Publication Number: WO 99/23248. / W. J. Barendse // World Intellectual Property Organization, Geneva, Switzerland. 1999.
2. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in Bos indicus cattle / E. Casas [et al.] // J. Anim. Sci. – 2005. – Vol. 83. – P. 13–19.

3. Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meattenderness / R. S. Marina Fortes [et al.] // Genetics and MolecularBiology – 2009. – Vol. 32. – P. 75–82.
4. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development / G. Ailhaund [et al.] // Annu Rev Nutr. – 1992. – Vol. 12. – P. 207–233.
5. Marker - assisted selection in beef cattle / V. E. Alison // UC Davis. – 2007. – P. 1–2.
6. Terminal differentiation of mouse preadipocyte cells: Adipogenic and antimitogenic role of triiodothyronine / C. Darimont [et al.] // Mol. Cell Endocrinol. – 1993. – Vol. 98. – P. 67–73.
7. Изучение генотипов ДНК-маркеров GH, DGAT1 и TG5 в связи с линейной принадлежностью и уровнем молочной продуктивности коров черно-пестрой породы : автореф. дис. / В. Р. Харзинова. – Дубровицы, 2011.
8. Поліморфізм гена тиреоглобуліну (TG) в популяціях великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності / М. Л. Добрянська, К. В. Копилов // Розведення і генетика тварин : міжвід. тем.наук. зб. – К., 2012. – Вип. 46. – С. 273–274.
9. Проблемы биотехнологии и селекции сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева, Л. К. Эрнст // Дубровицы : ВИЖ, 2004. – С. 316.
10. Разработка и экспериментальная апробация систем анализа полиморфизма генов-кандидатов липидного обмена у крупного рогатого скота : автореф. дис. / П. В. Ларионова. – Дубровицы, 2006.
11. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н. А. Плохинский. – М. : Колос, 1969. – 255 с.

*Проведен молекулярно-генетический анализ трех молочных и пяти мясных украинских пород крупного рогатого скота по гену тиреоглобулина с использованием метода ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов).*

*В исследованных популяциях животных, принадлежащих к пяти мясным породам крупного рогатого скота, частота аллеля T в четырех из них была значительно выше, чем в популяциях молочных пород. Только у животных породы герефорд наблюдалась низкая частота аллеля T, которая составила 0,113 и была ниже, чем у животных украинской красно-пестрой молочной породы (0,12), и не наблюдалось достоверной разницы между частотой аллеля T, по сравнению с тремя молочными породами. Низкая частота аллеля T гена TG в популяциях крупного рогатого скота, принадлежащих к породам молочного направления производительности, по сравнению с частотой этого аллеля в популяциях мясных пород крупного рогатого скота, может свидетельствовать о влиянии отбора животных определенного направления селекции КРС на изменение частоты аллеля T.*

***КРС, молочные породы, мясные породы, полиморфизм, локусы количественных признаков, тиреоглобулин.***

*Using PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism) performed molecular genetic analysis of Ukrainian three milk breeds and five meat breeds of cattle for thyroglobulin gene.*

*In the studied populations of animals belonging to five beef breeds of cattle, the frequency of allele T in four of them was significantly higher than in populations of dairy breeds. Only animals breed Hereford observed low frequency of allele T, which was 11,3% and was lower than in animals Ukrainian red-and-white milk breed (12%) and no significant difference was observed between the frequency of allele T compared with three dairy breeds. Low frequency of allele T TG gene in populations of cattle belonging to the species dairy performance compared with the frequency of this allele in populations of meat breeds of cattle, may indicate the impact of the selection of a particular animal breeding cattle direction to change the frequency of allele T .*

***Cattle, dairy breeds, meet breeds, polymorphism, loci of quantitative traits thyroglobulin.***