

УДК 575:636.082

ДУБІН О.В., канд. с.-г. наук

ДИМАНЬ Т.М., д-р с.-г. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

## ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА СТАДА УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ СТОВ «АГРОСВІТ» ЗА ПОЛІМОРФІЗМОМ QTL-ГЕНІВ

Проведено аналіз генетичної структури корів української чорно-рябої молочної породи СТОВ «Агросвіт» за поліморфізмом п'яти QTL-генів, асоційованих з молочною продуктивністю. На основі розподілу алельних частот визначено основні показники генетичної мінливості дослідженої популяції худоби: ефективне число алелів, індекс гетерогенності Шеннона та індекс фіксації Райта. Встановлено низьку частоту господарсько цінних алелів за генами k-казеїну та гормону росту, що свідчить про недостатній продуктивний потенціал та необхідність удосконалення селекційної роботи у стаді.

**Ключові слова:** генетична структура, k-казеїн,  $\beta$ -лактоглобулін, гормон росту, гіпофіз-специфічний фактор транскрипції, пролактин.

**Постановка проблеми.** Ефективність селекції можна значно підвищити шляхом використання нових молекулярних методів оцінювання ознак продуктивності сільськогосподарських тварин, що базуються на аналізі спадкової інформації. З розвитком молекулярної генетики стає можливим ідентифікація варіантів генів, які належать до так званих локусів кількісних ознак QTL (Quantitative Trait Loci's). Ідентифікація генів, асоційованих з господарсько корисними ознаками, на рівні порід, стад, споріднених груп тварин дає змогу виявляти особливості племінного матеріалу, оцінювати різноманітність генофонду популяцій, прогнозувати зміни, пов'язані з селекційними чинниками, виявляти потенційно високопродуктивних тварин у ранньому віці і, насамкінець, отримувати прибутки за рахунок скорочення генераційного інтервалу, застосування маркерної селекції тощо.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Для низки порід великої рогатої худоби як вітчизняної, так і зарубіжної селекції, сьогодні проведено аналіз генетичної структури за QTL-генами. Найчастіше проводять ідентифікацію генотипів української худоби за генами k-казеїну та  $\beta$ -лактоглобуліну, які кодують білки молока й регулюють його кількість, масову частку жиру і білка [1]. Меншою мірою досліджено генетичну структуру вітчизняних стад за генами пролактину (PRL), гормону росту (GH) та гіпофіз-специфічної транскрипції (Pit-1) [2]. Перші два задіяні в процесах лактогенезу та експресії генів молока, Pit 1 – регуляції експресії генів гормону росту і пролактину.

**Метою** нашого дослідження був комплексний аналіз генетичної структури групи корів української чорно-рябої молочної породи СТОВ «Агросвіт» за генами k-казеїну,  $\beta$ -лактоглобуліну, Pit-1, гормону росту та пролактину і визначення її продуктивного потенціалу.

**Матеріал і методика досліджень.** Матеріалом для досліджень слугувала периферійна кров корів української чорно-рябої молочної породи великої рогатої худоби (СТОВ «Агросвіт» Миронівського р-ну Київської обл., n=24). Проби крові великої рогатої худоби відбирали з хвостової вени одноразовим шприцом об'ємом 5–10 см<sup>3</sup> з подальшим консервуванням 3%-ним розчином ЕДТА.

Виділення геномної ДНК проводили методом сорбування на силіцій оксиді [4]. Ампліфікацію ділянок досліджених генів та наступну рестрикцію продуктів ПЛР проводили методом ПЛР-ПДРФ (полімеразна ланцюгова реакція – аналіз поліморфізму рестрикційних фрагментів) [3].

Електрофоретичний аналіз продуктів рестрикції проводили у 2–4 %-ному агарозному гелі за використання 1×TBE-буфера. Візуалізацію ДНК-бендів проводили за допомогою бромистого етидію (0,5 мкг/см<sup>3</sup>). Генотипи досліджених тварин визначали за молекулярним розміром продуктів рестрикції порівняно з маркером GeneRuler 100 bp («Fermentas», Литва) за використання програмного пакету Quantity One® Version 4.6.3 (BioRad, США). Математичну обробку даних проводили за використання спеціалізованого макроса GenAlEx6 для MS EXCEL [5].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Генетичну структуру дослідженої популяції української чорно-рябої молочної породи великої рогатої худоби за п'ятьма геномними локусами визначали за розподілом алельних частот. За всіма молекулярно-генетичними маркерами нами виявлено поліморфізм, при цьому спостерігали лише основні алельні варіанти досліджених ділянок генів, типові для європейських порід худоби: А і В – для генів  $\kappa$ -казеїну,  $\beta$ -лактоглобуліну та Pit-1, L і V – для гена GH та А і G – для PRL. На рисунку 1 представлено спектри електрофоретичного розділення продуктів рестрикції за аналізу поліморфізму досліджених генів.

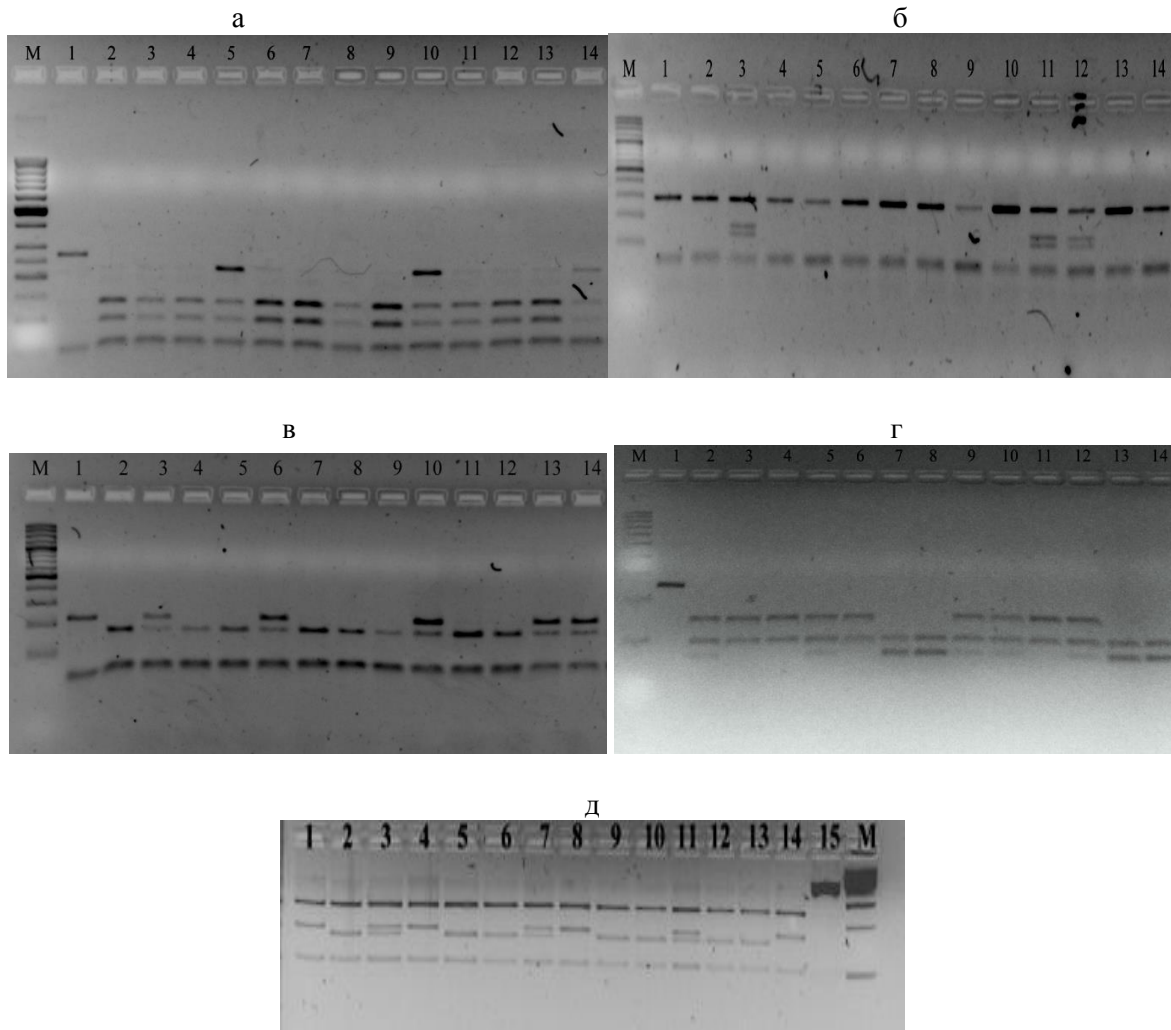


Рис. 1. Спектри рестрикційних фрагментів локусів *QTL*-генів: а)  $\kappa$ -казеїну: 2–4, 6–9, 11–13 – генотип АА; 5, 10, 14 – генотип АВ; б) PRL: 1 – продукт ПЛР, 2, 4–10, 13, 14 – генотип АА; 3, 11, 12 – генотип АG; в) GH: 2, 4, 5, 7–9, 11, 12 – генотип LL; 3, 6, 10, 13, 14 – генотип LV; г)  $\beta$ -лактоглобуліну: 2, 5, 9, 10, 12 – генотип АВ; 3, 4, 6, 11 – генотип АА; 7, 8, 13, 14 – генотип ВВ; д) Pit-1: 1, 2, 4–6, 8–10, 12–14 – генотип ВВ; 3, 7, 11 – генотип АВ. М – маркер довжин продуктів рестрикції (GeneRuler 100 bp); 1 – продукт ПЛР.

У дослідженому стаді корів переважають тварини з генотипом АА за локусом гена  $\kappa$ -казеїну (рис. 1а), АА – пролактину (рис. 1б), LL – гормону росту (рис. 1в), АВ –  $\beta$ -лактоглобуліну (рис. 1г), ВВ – Pit-1, тимчасом, згідно з даними літератури [2], з кращими показниками молочної продуктивності в худоби української чорно-рябої молочної породи асоційовані генотипи АВ, АG, LV, АВ та АА відповідних генів. Найвищий рівень фактичної гетерозиготності ( $H_o$ ) виявлено за локусом  $\beta$ -лактоглобуліну (70 %), найменший – за локусом гормону росту (10 %) (табл. 1).

Статистично достовірні відмінності між фактичною і очікуваною гетерозиготністю ( $H_e$ ) в дослідженій групі тварин виявлено лише за локусом  $\beta$ -лактоглобуліну ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 1 – Розподіл алельних частот, гетерозиготність та  $\chi^2$ -тест за дослідженими генами кількісних ознак

| Локус                  | Алель | Частоти | Гетерозиготність |       | $\chi^2$ | Вірогідність |
|------------------------|-------|---------|------------------|-------|----------|--------------|
|                        |       |         | $H_o$            | $H_e$ |          |              |
| k-казеїн               | A     | 0,925   | 0,150            | 0,139 | 0,131    | 0,717        |
|                        | B     | 0,075   |                  |       |          |              |
| $\beta$ -лактоглобулін | A     | 0,650   | 0,700            | 0,455 | 5,799    | 0,016*       |
|                        | B     | 0,350   |                  |       |          |              |
| GH                     | L     | 0,950   | 0,100            | 0,095 | 0,055    | 0,814        |
|                        | V     | 0,050   |                  |       |          |              |
| PRL                    | A     | 0,800   | 0,400            | 0,320 | 1,250    | 0,264        |
|                        | G     | 0,200   |                  |       |          |              |
| Pit-1                  | A     | 0,375   | 0,400            | 0,420 | 0,045    | 0,831        |
|                        | B     | 0,625   |                  |       |          |              |

\* -  $p < 0,05$

На основі розподілу алельних частот обчислено основні показники генетичної мінливості дослідженої популяції великої рогатої худоби: ефективне число алелів ( $n_e$ ), індекс гетерогенності Шеннона ( $I$ ) та індекс фіксації Райта ( $F_{is}$ ) (табл. 2). Розмах показника  $n_e$  становив від 1,105 (GH) до 1,835 ( $\beta$ -лактоглобулін). Значення індексу Шеннона варіювали від 0,199 до 0,647 і загалом були порівнянними зі значеннями ефективної кількості алелів. Обчислення індексу фіксації Райта, який відображає інбридинг особини відносно популяції, довело наявність надлишку гетерозигот за чотирма з досліджених локусів (за винятком гіпофіз-специфічного фактора Pit-1).

Виявлені особливості генетичної структури стада корів СТОВ «Агросвіт» за поліморфізмом п'яти QTL-генів дають змогу оцінити його продуктивний потенціал і розробити стратегію подальшої селекційної роботи зі стадом.

Таблиця 2 – Значення основних показників генетичної різноманітності досліджених тварин

|                        | Кількість алелів | Ефективне число алелів ( $n_e$ ) | Індекс Шеннона ( $I$ ) | Індекс фіксації ( $F_{is}$ ) |
|------------------------|------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------------|
| k-казеїн               | 2                | 1,161                            | 0,266                  | -0,081                       |
| $\beta$ -лактоглобулін | 2                | 1,835                            | 0,647                  | -0,538                       |
| GH                     | 2                | 1,105                            | 0,199                  | -0,053                       |
| PRL                    | 2                | 1,471                            | 0,500                  | -0,250                       |
| Pit-1                  | 2                | 1,724                            | 0,611                  | 0,048                        |

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Таким чином, досліджено «генетичний портрет» стада корів чорно-рябої породи СТОВ «Агросвіт» за генами k-казеїну, пролактину,  $\beta$ -лактоглобуліну, гормону росту та гіпофіз-специфічного фактора транскрипції. Генетична структура дослідженої групи тварин відповідає генетичній структурі порід молочного напрямку продуктивності. Низька частота господарсько цінних алелів за генами k-казеїну та гормону росту свідчать про недостатній продуктивний потенціал стада та необхідність удосконалення селекційної роботи в ньому.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гиль М.І. Генетичний аналіз полігенно обумовлених та поліморфних ознак худоби молочних порід: автореф. дис. д-ра с.-г. наук / М.І. Гиль. – Чубинське Київської обл., 2011. – 41 с.
2. Копилов К.В. ДНК-діагностика генетичних ресурсів великої рогатої худоби: автореф. дис. д-ра с.-г. наук / К.В. Копилов. – Чубинське Київської обл., 2011. – 33 с.
3. Методичні рекомендації щодо використання методу полімеразної ланцюгової реакції в скотарстві / Р.В. Облап, Н.Б. Новак, М.Д. Мельничук, Т.М. Димань, О.В. Дубін / За ред. Т.М. Димань. – Біла Церква, 2010. – 66 с.
4. Carter M.J. An inexpensive and simple method for DNA purifications on silica particles / M.J. Carter, I. D. Milton // Nucleic Acids Res. – 1993. – Vol.21. – P.1044–1046.
5. Peakall R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P.E. Smouse // Molecular Ecology Notes. – 2006. – Vol. 6. – P.288–295.

**Генетическая структура стада украинской черно-пестрой молочной породы крупного рогатого скота ООО «Агросвит» по полиморфизму QTL-генов**

**А.В. Дубин, Т.Н. Дымань**

Проведен анализ генетической структуры стада украинской черно-пестрой молочной породы крупного рогатого скота ООО «Агросвит» по полиморфизму пяти QTL-генов, ассоциированных с молочной продуктивностью. На основе распределения аллельных частот определены основные показатели генетической изменчивости исследованной популяции скота: эффективное число аллелей, индекс гетерогенности Шеннона и индекс фиксации Райта. Установлена низкая частота хозяйственно ценных аллелей по генам к-казеина и гормона роста, что свидетельствует о недостаточном продуктивном потенциале и необходимости совершенствования селекционной работы в стаде.

**Ключевые слова:** генетическая структура, к-казеин,  $\beta$ -лактоглобулин, гормон роста, гипофиз-специфический фактор транскрипции, пролактин.

**Genetic structure of herd of Ukrainian Black and White dairy breed of Ltd. "Agrosvit" on QTL-genes**

**A. Dubin, T. Dyman**

The analysis of genetic structure of herd of Ukrainian Black and White Dairy cattle breed in Ltd "Agrosvit" on polymorphism of five QTL-genes associated with milk production have been conducted.

On the basis of allele frequency distribution it have been calculated the main indices of genetic variability of investigated cattle population: effective number of alleles, Shannon index and Rite index. It has been revealed the low frequency of economic valuable alleles on k-casein and growth hormone genes.

The analysis allows conclude that the productive potential of investigated herd is not sufficient.

There is a necessity in improvement of selection activity in this herd.

**Key words:** genetic structure, k-casein,  $\beta$ -lactoglobulin, growth hormone, Pit-1, prolactin.