

УДК 636.082:575.113  
© 2012

*K.B. Копилова,  
кандидат сільсько-  
гospодарських наук  
Інститут розведення  
i генетики тварин НААН*

Стрімкий розвиток ДНК-технологій за останні десятиріччя дав змогу проаналізувати генетичну структуру ДНК на рівні інtronних або екзонів послідовностей геному. Ці фундаментальні розробки знайшли своє застосування і в аграрних галузях. Один із найважливіших напрямів досліджень — це пошук і визначення генетичних маркерів генів, які беруть участь у формуванні полігенних якісних показників продуктивності. Ці гени отримали назву локусів кількісних ознак Quantitative Trait Loci's (QTL) [1–6]. Під час проведення таких досліджень особливу увагу в скотарстві надають детальній оцінці бугаїв, які впливають на формування племінного ядра популяцій та великих масивів тварин завдяки штучному заплідненню. Сперму цих бугаїв закладають для використання і довготривалого зберігання у кріобанки і спермосховища. Застосування у тваринництві ДНК-маркерів дає змогу оцінювати генетичний потенціал, проводити добір тварин і прискорювати селекційну роботу [7].

З метою збереження та аналізу генофонду молочних і м'ясних порід великої рогатої худоби, плідників яких інтенсивно використовували у 1970–2000-х роках минулого століття, у 2002 р. було ухвалено рішення про збереження в Національному банку генетичних ресурсів тварин ІРГТ НААН найбільш цінного генетичного матеріалу у вигляді сперми плідників для подальшої всебічної молекулярно-генетичної оцінки.

**Мета роботи** — індивідуальний аналіз генотипів плідників за QTL 25 порід великої рогатої худоби.

**Матеріали і методи.** Для дослідження використано зразки біоматеріалу від 145 плідників 15 порід великої рогатої худоби, які зберігаються в Національному банку генетичних ресурсів тварин ІРГТ НААН. Поліморфізм досліджених локусів визначали за ПЛР-ПДРФ. Для проведення ПЛР використовували реакційну суміш об'ємом 10 мкл:  $H_2O$  — 4,3 мкл, буфер — ПЛР

## ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА БУГАЇВ РІЗНИХ ПОРІД ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЗА ЛОКУСАМИ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК (QTL)

**Проведено молекулярно-генетичну оцінку індивідуальних генотипів бугаїв 25 порід великої рогатої худоби за локусами кількісних ознак QTL:  $k\text{-Cn}$ ,  $\beta\text{-LG}$ ,  $GH$ ,  $TG$ ,  $CAPN1 530$ ,  $MSTN$ . Отриману індивідуальну інформацію можна використати в подальшій селекційній роботі як характеристику для поліпшення продуктивних властивостей тварин.**

5-x (15 м  $Mg$  — 1 мол) — 2 мкл; dNTP суміш 10-x (2 мМ кожного) — 0,8 мкл; 2 праймера (70 нг кожного) — 0,8 мкл; Таq-полімеразу (1 мол/1000U) — 0,1 мкл; ДНК 50–100 нг — 2 мкл. Температурний режим і кількість циклів ПЛР-ампліфікації для кожного гена було визначено окремо.

Для аналізу поліморфізму структурних генів використовували рестриктази, підібрани до кожного локусу: каппа-казеїну ( $k\text{-Cn}$ ) —  $Hinf$  1, бета-лактоглобуліну ( $\beta\text{-LG}$ ) —  $Nae$  III, гормону росту  $GH$  —  $Alul$ , тиреоглобуліну ( $TG$ ) —  $Psul$ , калпайну ( $CAPN1 530$ ) —  $Psyl$ . Електрофоретичне розділення рестриктних ДНК-фрагментів провадили у 2%-му агарозному гелі. Візуалізацію здійснювали на трансілюмінаторі в УФ-світлі за довжини хвилі 380 нм. Розміри рестриктних фрагментів виявляли за допомогою маркера молекулярних мас *GeneRuler TM100 bp DNA Ladder*.

**Результати дослідження.** До якісних показників м'ясної продуктивності належать ніжність і мармурівість. Кількісною характеристикою ніжності м'яса є поперечна пружність м'язово-го волокна, яку пов'язують з дією кальційзалежних протеїназ, що кодуються генами калпайну ( $CAPN$ ) і калпластину ( $CAST$ ). Мармурівість характеризує кількість внутрішньом'язового жиру, депонування якого контролюють багато генів, серед яких найбільша незалежним від породи й умов утримання є ген  $TG$ .

Установлено генотипи 61-го бугая 10-ти м'ясних порід великої рогатої худоби за 3-ма локусами кількісних ознак —  $CAPN1 530$ ,  $TG$  і міостатину  $MSTN$  зі зразків біоматеріалу, з яких формується банк ДНК як складова Національного банку генетичних ресурсів тварин ІРГТ НААН.

Установлено, що за геном  $CAPN1 530$  частка тварин з бажаним генотипом GG за цим локусом становила 59%, гетерозиготних носіїв алеля G — 32,8, а частка тварин з генотипом AA — 8,2%. Нами не було виявлено бугаїв з

генотипом AA в породах шароле, кіан, лімузин, світла аквітанська, мен-анжу через невелику кількість досліджених тварин. За геномом TG частка гетерозиготних тварин становила 29,5%, тварин з генотипом CC — 54,1 від усіх досліджених бугаїв, тварини — носії бажаного генотипу TT становили 16,4%. За геномом MSTN частота генотипу AA серед усіх протестованих бугаїв — 100%.

У результаті аналізу генетичної структури за локусом k-Cp серед 42-х плідників голштинської породи 19 тварин були гетерозиготними, а бугай Ракурс Ред 136 виявився гомозиготним за B-алелем. Загалом розподіл алельних варіантів локусу k-Cp характерний для тварин молочного напряму продуктивності, частота алельного варіанта A, який бере участь у формуванні такого показника, як надій, була значно вищою, ніж алельного варіанта B, і становила 0,750 порівняно з 0,250 відповідно.

За показниками лінійної належності протестованих нами тварин установлено, що у бугаїв голштинської породи лінії Астронавта, Валіанта, Метта був наявний лише генотип AA за локусом k-Cp. У бугаїв лінії Кавалера виявився характерним лише гетерозиготний генотип AB. Для бугаїв лінії Імпрувера Ред, Р. Соверінга, Сітейшна, Старбака і Хановера Ред характерні генотипи AA і AB, для бугаїв лінії С.Т. Рокіта — AB і BB.

Серед 21-го бугая симентальської породи за локусом k-Cp плідники Баян 6538, Букет 609, Планді 5344431, Ранок 5884, Сінвоналас UA3200801402 виявилися гомозиготними за алелем A гена k-Cp, а бугай Вулкан 7540 (лінія Воїна), Садовий 6368 (лінія Радоніса) та Малиш 4610 є гомозиготами за алелем B, який є бажаним і бере участь у формуванні якісного показника молочної продуктивності — умісту білка в молоці. Для бугаїв симентальської породи частота алеля A становила 0,548, частота генотипів у тварин така: AA — 0,238, AB — 0,619, BB — 0,143.

Серед усіх плідників виявлений один бугай Рак 3835 (III покоління лінії Бутмейке 1450228), гомозиготний за алелем B.

Для бугаїв української червоно-рябої молочної породи генотип AA був характерний плідникам, які належать до ліній Елевейшна, Імпрувера, Р. Соверінга і Рігела, а генотип AB — до ліній Хановера, Валіанта, Імпрувера, Кавалера, Рігела. Лише в одного бугая лінії Бутмейке виявлено генотип BB.

Для 6-ти із 7-ми бугаїв української чорно-рябої молочної породи був характерний генотип AA (представники ліній Вісконсіна, Ельбруса, Монтфреча та Суддіна). Лише 1 бугай Чопорний 5063/2896 був гетерозиготою за бажаним алелем B і мав генотип AB (лінія Суддіна).

Бугаї української червоної молочної породи Юній 146 і Йорш 884 мали генотип AA, а Дукат 125 та Деятель 328 були гетерозиготами.

Загалом зі 144 бугаїв 15-ти порід великої рогатої худоби 10 мали генотип BB, а 70 плідників виявилися гетерозиготними за локусом k-Cp, що свідчить про досить цінний генетичний матеріал, який зберігається в Національному банку генетичних ресурсів тварин ІРГТ НАН. Одним з основних локусів, що беруть участь у формуванні білковомолочності, є локус  $\beta$ -LG, алельний варіант В якого асоційований із високим умістом казеїнових білків і підвищеним умістом жиру в молоці. У результаті тестування плідників голштинської породи бугаї Річард Ред 810/1810 і Кобзар 5312 виявилися гомозиготними за A алелем, частота тварин з генотипом AB становила 0,500 (21 гол.), з BB — 0,452 (19 гол.). За локусом  $\beta$ -LG усі плідники породи гаскон і пінцгау виявилися гомозиготними за алелем В. Бугай Фрамето 4990021111/0463 породи монбельядр — гетерозиготний, серед тварин симентальської породи розподіл генотипів був такий: гомозиготними за алелем A виявилася бугай Флагман 5176 і Ферст 6790, а за алелем B — Букет 609, Казбек 7279, Каштан 6441, Компас 2246, Корал 1659, Ларнет 4927, Планді 15344431. Частота алеля A у тварин симентальської породи становила 0,381, алеля В — 0,619. Для бугаїв вітчизняних порід лебединська та сіра українська характерною виявилася перевага гомозиготних бугаїв за алелем B. Лише бугай Зеніт 2785 сірої української, бугай Буйний 102 та Качур 5296 лебединської породи були гетерозиготними за локусом  $\beta$ -LG.

За показниками індивідуального аналізу генотипів тварин голштинської породи отримано результати щодо розподілу частот генотипів та алельних варіантів локусу гормону росту. Для голштинської породи характерна перевага в популяції алеля L. Лише плідники: Еней Ет 81, Менует 661, Джаз 8456, Керрі Ет Ред 5634653/5111, Х.Х.Ю. Дакота Ет 5821984/5136 були гетерозиготні за локусом гормону росту. Бугай Арбат 1577, Дощик 3792/179, Рак 3835 української червоно-рябої молочної породи виявилися гетерозиготами, всі інші плідники були гомозиготними за L-алелем і лише бугай Кінг 3091 мав генотип VV. Генетична структура за локусом гормону росту у тварин української червоно-рябої молочної породи подібна до голштинської. Для тварин симентальської породи частота алеля L становила 0,714, алеля V — 0,288. Бугай Баян 6538, Букет 609, Звон 6444, Казбек 7279, Компас 2246, Корал 1659, Садовий 6368, Малиш 4610 і Флагман 5176 виявилися гомозиготними за L-алелем, інші 12 бугаїв були гетерозиготами. Бугай Фрамето

4990021111/0463 породи монбелльядр був гете-  
розиготою, як і всі бугаї породи гаскон, а також

бугаї Стюарт 39263235 і Функер 424490357 по-  
роди пінцгау.

## Висновки

Накопичення в банку ДНК сперми плідників, зокрема й плідників аборигенних порід, створює передумови для подальших наукових досліджень на популяційному рівні процесів, пов'язаних з формуванням мікропопуляцій великої рогатої худоби. Під час формування банку ДНК потрібно визначати генотипи тварин

великої рогатої худоби за генами: *k-Cn*,  $\beta$ -LG, GH, TG, CAPN1 530, *MSTN*. Отриману індивідуальну інформацію можна використати в подальшій селекційній роботі як характеристику для поліпшення якісних показників продуктивності та збереження біоматеріалу з різною генетичною комбінаторикою.

## Бібліографія

1. 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. — 91, № 8. — P. 3225–3236.
2. Barendse W.J. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle/Barendse W.J., Bunch R., Thomas M. [et al.]//Austr. J. Exp. Agricult. — 2004. — V. 44. — P. 66.
3. Costello S. Association of polymorphisms in the calpain I, calpain II and growth hormone genes with tenderness in bovine *M. longissimus dorsi*/Costello S., O'doherty E., Troy D.J. [et al.]//Meat. Science. — 2007. — V. 75. — P. 551–557.
4. 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. — 91, № 4. — P. 1614–1627.
5. 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. — 91, № 7. — P. 2857–2863.
6. Quantitative trait loci affecting milk yield and protein in a three-country brown swiss population/A. Bagnato, F. Schiavini, A. Rossioni [et al.]//Journal of dairy science. — 2008. — 91, № 2. — P. 767–783.
7. The Use of Genetic Markers to Measure Genomic Response to Selection in Livestock/L. Gomez-Raya, H. Gro Olsen, F. Lingaa [et al.]//Genetics. — 2002. — 162, № 3. — P. 1381–1388.