

3. Польська П. І. Асканійська м'ясо-вовнова порода овець/ П. І. Польська // Матеріали до апробації селекційного досягнення з вівчарства – Асканія-Нова. 2000. – 241 с.
4. Польська П. І., Калашук Г. П. Основні складові системи селекції асканійської м'ясо-вовнової породи з скросбредною вовною/ П. І. Польська, Г. П. Калашук// Вівчарство: міжвід. темат. наук. сб. Нова Каховка, 2011. – Вип. 36. – С 49-54.
5. Попов И. С. Достижения и задачи зоотехнической науки в области кормления сельскохозяйственных животных/ И. С. Попов// Избранные труды. М.: - 1966. – С. 770-777.
6. Рудик І. А. Розповсюдження генетичної мутації VLAD у популяції молочної худоби/ І. А. Рудик, Т. М. Димань, А.П.Загородній, В. В. Дзицюк// Вісник аграрної науки. – 2006. – № 11. – С. 53-55.
7. Положення про присвоєння відповідних статусів суб'єктів племінної справи у тваринництві. – Офіц. вид. – К.: міністерство АПК. УААН, ДНВК «Селекція». – 2003. – додаток 11 до п. 4.1. – С. 54.

УДК 636.082 : 575.113

## ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦІЇ СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЗА ДВОМА ТИПАМИ ДНК-МАРКЕРІВ

*Копилова К.В. – к.с.-г.н., завідувач лабораторії генетики ІРГТ НААН;  
Добрянська М.Л. - м.н.с., лабораторії генетики ІРГТ НААН ;  
Вороненко В.І. – к.с.-г.н., Херсонський ДАУ;  
Назаренко В.Г. – к.с.-г.н., провідний науковий співробітник Інституту тваринництва степових районів ім.М.Ф.Іванова «Асканія-Нова»*

**Постановка проблеми.** В умовах ринкової економіки відбуваються процеси перетворень у сільськогосподарському виробництві, які охоплюють більшість складових тваринницької галузі. Швидка зміна породного складу створює проблему збереження генофонду локальних порід і популяцій, які за рівнем продуктивності не здатні конкурувати з високоспеціалізованими племінними ресурсами. У першу чергу це стосується вітчизняних локальних порід, що приводить до звуження природної різноманітності тварин і втрати генів і генних комплексів, що притаманні цим породам. Отже, ці породи слід вважати носіями унікальної генетичної інформації, яку неможливо відтворити сучасними методами селекції. У скотарстві України однією з таких порід є сіра українська. У результаті проведеного в Україні 2006-2010 рр. обстеження племінних ресурсів тваринництва було відзначено необхідність поглибленого дослідження генетичної структури стад, виявлення найбільш типових тварин.

Така робота необхідна для розроблення конкретних заходів щодо програмованого відтворення селекційного матеріалу, який може забезпечити підтримку біорізноманітності в тваринництві України.

**Стан вивчення проблеми.** При збереженні порід *in situ* основне завдання полягає в тому, щоб не втратити специфічні генні комплекси (або збалансовану систему генів), які обумовлюють фенотипові породні характеристики, пов'язані з екстер'єрними особливостями, продуктивністю, життєздатністю, резистентністю тварин [1]. У цьому напрямку особливої уваги заслуговують методи генетичних досліджень, послідовне застосування яких сприяє створенню системи генетичного моніторингу. У цій системі вагоме місце надається тестуванню тварин за комплексом генетичних тестів, серед яких першорядну роль відіграють генетичні маркери. Генетичний моніторинг забезпечує можливість аналізу генетичних процесів, що відбуваються при розведенні худоби в нечисленних популяціях. Так, у результаті проведення робіт [2, 3] у сірої української породи було встановлено спрямованість генетичних процесів природного добору на збереження гетерозиготністю. Дослідження генофонду цієї породи, проведені в рамках міжнародної експедиції під егідою FAO, показали її специфіку порівняно з іншими спорідненими породами не тільки за групами крові, а і за іншими генетичними характеристиками [4, 5]. Було визначено оригінальність цієї породи не тільки наявністю в її алелофонді рідкісного алелю F трансферинного локусу, а і рядом специфічних алелей системи В груп крові, з яких найбільш розповсюджений  $VI_1QPI$ . У даний час постає завдання більш поглибленого аналізу генофонду цих порід із залученням більш широкого спектру генетичних тестів, які базуються на застосуванні різних методів ДНК-аналізу.

До теперішнього часу генетична структура сірої української породи майже не вивчена за локусами кількісних ознак (QTL), які беруть участь у формуванні якісних показників продуктивності. Відомо, що м'ясо та шкіри сірої худоби високо цінувались на ринках ще на початку ХХ століття. Тому з метою аналізу генетичної структури нами було проведено дослідження за поліморфізмом генів, які беруть участь у формуванні якісних показників м'ясної продуктивності та оцінка мультилокусного міжмікросателітного поліморфізму.

До якісних показників м'ясної продуктивності належать ніжність та мрамуровість м'яса. Кількісною характеристикою ніжності м'яса є поперечна пружність м'язового волокна, яку пов'язують з дією кальцій-залежних протеїназ, що кодуються генами калпастатину (CAST) і калпаїну (CAPN) [7, 8]. Мрамуровість характеризується кількістю внутрішньом'язового жиру, депонування якого контролюють багато генів, серед яких найбільш незалежним від породи і умов утримання є ген тиреоглобуліну (TG) [9, 10].

**Завдання і методика досліджень.** Завданням нашого дослідження був аналіз особливостей генетичної структури популяції тварин сірої української породи за поліморфізмом двох типів ДНК-маркерів (QTL та ISSR).

Дослідження проводились на зразках крові від 84-х тварин ДП ДГ «Маркеєво». ДНК виділяли сорбентним методом. Для аналізу поліморфізму структурних генів методом ПЛР-ПДРФ використовували реакційну суміш об'ємом 10 мкл:  $H_2O$  - 4.3 мкл, буфер- ПЛР 5-х (15 м Mg-1.0 мол) - 2.0 мкл; dNTP суміш 10-х (2мМ кожного) - 0.8 мкл; два праймера (70 нг кожного) - 0.8 мкл; Taq-полімераза (1мол/1000 U) - 0.1 мкл; ДНК 50-100 нг - 2.0 мкл. Температурний

режим і кількість циклів ПЛР - ампліфікації для кожного локусу були визначені окремо. Для рестрикції використовували рестриктази *PvuI* (TG), *PvuI* (CAPN1 530). Дослідження за ISSR-маркерами проводили методом ПЛР з використанням в якості праймерів фрагментів динуклеотидних та тринуклеотидних мікросателітних локусів:  $(AG)_9C$ ,  $(GA)_9C$   $(ACC)_6G$ ,  $(GAG)_6C$ . Аналізу підлягали лише ті фрагменти, які стабільно відтворювались у трьох процедурах ампліфікації. Електрофоретичне розділення ДНК фрагментів проводили у 2% агарозному гелі. Візуалізацію проводили на транслюмінаторі в УФ світлі при довжині хвилі 380 нм. Розміри рестриктних фрагментів виявляли за допомогою маркеру молекулярних мас, *GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder*.

**Результати досліджень.** При дослідженні популяції сірої української породи за генами, які беруть участь у формуванні якісних показників м'ясної продуктивності, виявлено, що за геном TG (рис.1) частота алелю T, який вважається бажаним для прояву мармуровості м'яса і характеризуються більшим вмістом міжм'язового жиру [9, 10], спостерігалась на рівні 0.405. Частота генотипу СТ була на рівні 0,571 і, за даним локусом фактична гетерозиготність ( $H_o = 0.571$ ) перевищувала очікувану ( $H_e = 0.483$ ), а значення індексу фіксації Райта ( $-0.183$ ). Це може свідчити про те, що в даній популяції ведеться селекційний процес, в якому перевага надається гетерозиготам за даним локусом.

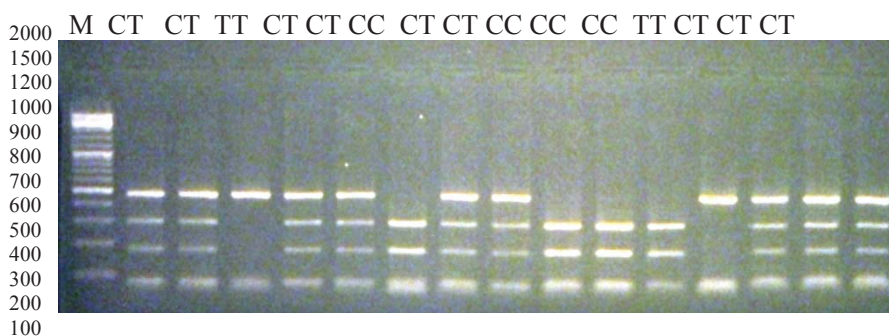


Рис.1. Електрофореграма рестрикційних фрагментів локусу тиреоглобуліну (TG).  
M- маркер молекулярних мас

Слід звернути увагу на той факт, що в дослідженій популяції за геном капіну (CAPN1 530) (рис.2) алель G якого є бажаним [7, 8] не виявлено жодної тварини, яка б несла алель A. Елімінація даного алелю може свідчити про те, що селекційний процес відбувся вже давно і мав спрямовану дію, тобто відбору підлягали тварини, м'ясо яких характеризувалось кращою смаковою якістю. У результаті нашого дослідження, були отримані дані про повне домінування G алелю в дослідженій популяції сірої української породи.

У результаті проведення дослідження за ISSR-маркерами (рис.3) при використанні тринуклеотидних мікросателітних повторів в якості праймерів було отримано більшу кількість ампліфікованих фрагментів, ніж при використанні динуклеотидних. Так з праймером  $(ACC)_6G$  ампліфіковано 13 фрагментів розміром 200, 250, 300, 350, 380, 400, 450, 500, 550, 640, 850, 950 та 1200 п.н., а з використанням праймеру  $(GAG)_6C$  ампліфіковано спектр з 11 фрагментів мо-

лекулярною масою 250, 280, 300, 350, 380, 430, 470, 550, 600, 650, 880 п.н. При використанні праймеру  $(AG)_9C$  стабільно відтворювались чотири фрагменти молекулярною масою 310, 430, 470, 520 п.н., а з праймером  $(GA)_9C$  отримано сім фрагментів розміром 320, 430, 480, 550, 1000, 1200, 1600 п.н.

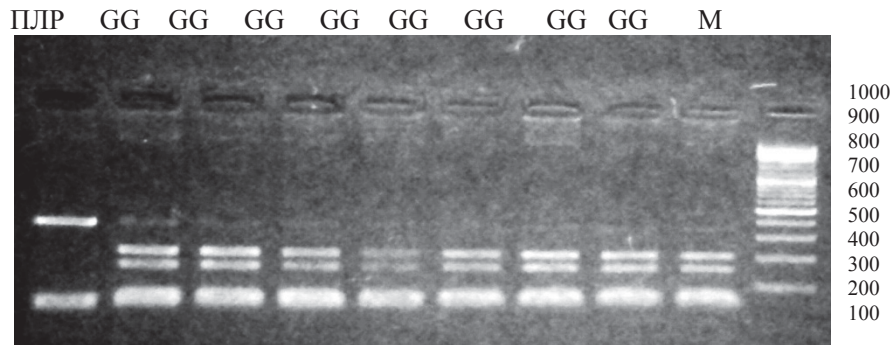


Рис.2. Електрофореграма рестрикційних фрагментів гену калпаїну (*CAPN1 530*).  
M- маркер молекулярних мас

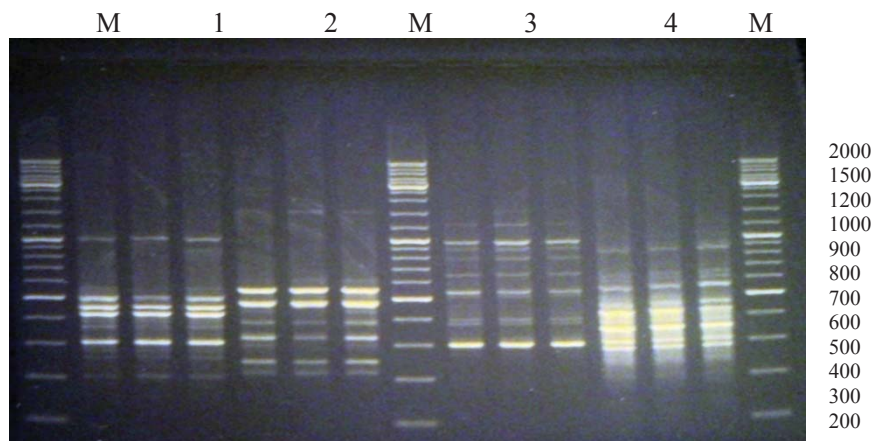


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ампліфікації M- маркер молекулярних мас; 1 –  $(AG)_9C$ , 2-  $(GA)_9C$ , 3-  $(ACC)_6G$ , 4-  $(GAG)_6C$

Загалом було виявлено 16 специфічних фрагментів – два для  $(AG)_9C$ , по чотири для  $(GA)_9C$ , та  $(GAG)_6C$  і сім для  $(ACC)_6G$ .

Слід відмітити той факт, що фрагмент розміром 430 п.н. був характерний для трьох праймерів, що мають схожі корові мотиви у своїй структурі і, можливо, займають однакові місця гібридизації з геномною ДНК.

**Висновки та пропозиції.** У результаті проведеної роботи було встановлено особливості генетичної структури популяції сірої української породи за поліморфізмом локусів кількісних ознак та ISSR-маркерам. Встановлено висока концентрація бажаних алелів за обома локусами QTL, що свідчить про цінність даної породи не тільки з позиції збереження генетичного різноманіття, а і можливості використання для покращення якості м'ясної продуктивності при

вдосконаленні існуючих порід великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності.

**Перспектива подальших досліджень.** Дослідження генетичної структури аборигенних порід представляє інтерес в першу чергу для збереження їх стабільної генетико-популяційної структури. Сіра українська порода представляє інтерес, як потенційне джерело генетичного матеріалу, що може використовуватися в майбутньому для селекції. Оцінюючи породу, неможливо передбачити цінність окремих ознак, тому робота повинна спрямовуватись на розробку і застосування прийомів і методів збереження всього комплексу ознак, характерних для породи, усього набору генів і систем, що склалися в результаті тривалого еволюційного процесу.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Столповский Ю. А. Концепция и принципы генетического мониторинга для сохранения *in situ* пород domesticiрованных животных / Ю. А. Столповский // Сельскохозяйственная биология. — 2010. — № 6. — С. 3-8.
2. Подоба Б. Є. Сучасний стан та перспективи збереження генофонду сірої української худоби / Б. Є. Подоба, Р. О. Стоянов, А. П. Кругляк // Біотехнологічні, селекційні та організаційні методи відтворення, зберігання і використання генофонду тварин : зб. наук. за матеріалами практ. наук.-вироб. конф. — К. : БМТ, 1997. — С. 198-199.
3. Kruglak A. The principles of gene preservation of the Gray Ukrainian cattle / A. Kruglak, O. Chirkova, B. Podoba // Proc. Int. simpos. on conservation measures for rare farm animal breeds, Balice, May 17–19 1994. — Poland, 1995.
4. Genome size in Grey Podolian cattle / A. Salerno, A. M. Mashurov, V. G. Nazarenko [et al.] // Abstr. 78<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Dairy Science Association. — Univ. of Wisconsin, Madison, USA, 1983. — P. 65.
5. Il genoma bovino: ricerche microdensitometriche sulla viabilità del DNA nucleare in popolazioni podoliche di comune origine etnica / A. Salerno, A. M. Mashurov, V. G. Nazarenko [et al.] // Agricoltura ricerca. — 1998. — Num. 177. — S. 21-28.
6. Племінні ресурси України / [упоряд.: Ю.Ф.Мельник, М.І.Агафонов; наук.ред.: М.В.Зубець, В.П.Буркат] — К. : Аграр.наука, 1998. — 336с.
7. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires / B. T. Page, E. Casas, R. L. Quaas [et al.] // J. Anim. Sci. — 2004. — Vol. 82. — P. 3474-3481.
8. Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meat tenderness / Marina R. S. Fortes, Rogério A. Curi; Luis Artur L. Chardulo [et al.] // Genetics and Molecular Biology. — 2009. — Vol. 32, № 1. — P. 75—82.
9. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle / W. J. Barendse, R. Bunch, M. Thomas [et al.] // Austr. J. Exp. Agricult. — 2004. — Vol. 44. — P. 66.
10. 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, S. N. White, D. G. Riley [et al.] // J. Anim. Sci. — 2005. — Vol. 83. — P. 13-19.