

9. Dyban, A. P. 1977. Struktura i funktsiya khromosom i deystvie genov v rannem embrional'nom razvitii mlekopitayushchikh. *Tretiy s"ezd vsesoyuznogo obshchestva genetikov i selektsionerov im. N. I. Vavilova – Third convention of all-union society of geneticists and selectionists of the name of N.I.Vavilova*. L., Nauka, 151 (in Russian).

10. Suprovych, T. M. 2014. *Molekulyarno-henetychnyy analiz holovnoho kompleksu histosumisnosti v zv'yazku zi stiykistyuu ta spryunnyatlyvistyuu do mastytiv u koriv. Avtoreferat dys.....doktora s.-h. nauk – Molecular-genetic analysis of main complex of histocompatibility in connection with firmness and receptivity to mastitises for cows. Abstract of thesis of dissertation of doctor of agricultural sciences*. Chubynske, 40 (in Ukrainian).

УДК 575.113:636.2.082

ЗВ'ЯЗОК ГЕНА СОМАТОТРОПНОГО ГОРМОНУ З ГОСПОДАРСЬКИ КОРИСНИМИ ОЗНАКАМИ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ ПОРОДИ

О. І. БАБЕНКО

Білоцерківський національний аграрний університет (Біла Церква, Україна)
lelya_babenko@list.ru

Проведено популяційно-генетичний аналіз розподілу алельних варіантів за геном соматотропного гормону у тварин української чорно-рябої породи. Досліджено, що розподіл алельних варіантів генів GH вказує на відмінності між окремими генотипами за показниками продуктивності. Частота алелів L і V становила відповідно 0,859 та 0,140. Встановлено вірогідну перевагу за надоєм у корів з генотипом LL порівняно з гомозиготами VV, а також перевагу генотипів LV за масовою часткою жиру в молоці над гомозиготами LL на 0,07 %, VV – відповідно на 0,03%. Виявлено вірогідні рівні залежності надоїв, масової частки білка, жиру в молоці та живої маси корів-первісток від генотипу тварин за локусами генів. Наведені результати досліджень щодо особливостей успадкування племінної цінності корів за надоєм, масовою часткою жиру та білка в молоці. Темпи збільшення живої маси від народження до першого отелення були вищими у тварин з генотипом LL.

Ключові слова: гени, ген соматотропного гормону, генетичні маркери, генотипи, алелі, поліморфізм, селекційні ознаки, корови-первістки, українська чорно-ряба молочна порода, племінна цінність, молочна продуктивність

RELATIONS OF SOMATOTROPIN HORMONE IN UKRAINIAN BLACK AND WHITE DAIRY CATTLE BREED AND ITS ASSOCIATION WITH PRODUCTIVITY TRAITS

H. I. Babenko

Bila Tserkva National Agrarian University (Bila Tserkva, Ukraine)
lelya_babenko@list.ru

The population-genetic analysis of the distribution of allelic variants in somatotropin gene in Ukrainian Black and White Dairy of cattle breed was conducted. The distribution of allelic variants of GH genes indicates the differences between certain genotypes on productive traits. The frequency of alleles L and V were respectively 0,859 and 0,140. It was found a significant advantage on yield of milk in cows with genotype LL compared with homozygotes VV and also the advantage of genotypes LL on fat content compared with homozygotes 0,07 % and VV – 0,03 %, respectively.

© О. І. Бабенко, 2015

Reliable levels depending on yields, protein and fat in milk, and live weight of dairy cows on the genotype of animals on the loci of genes have been established. The results of research of the forms inheritance characteristics of cows breeding values for the yield and milk fat and protein depending were shown. The rate of increase in live weight of animals from birth to first calving were higher in animals with genotype LL.

Key words: genes, somatotropin gene, genetic markers, genotypes, allele, polymorphism, selection traits, cows, heifers, Ukrainian Black and White Dairy breed, breeding value, milk productivity

СВЯЗЬ ГЕНА СОМАТОТРОПНОГО ГОРМОНА С ХОЗЯЙСТВЕННО ПОЛЕЗНЫМИ ПРИЗНАКАМИ КОРОВ УКРАИНСКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ

Е. И. Бабенко

*Белоцерковский национальный аграрный университет (Белая Церковь, Украина)
lelya_babenko@list.ru*

Проведен популяционно-генетический анализ распределения аллельных вариантов по гену соматотропного гормона у животных украинской черно-пестрой молочной породы. Установлено, что распределение аллельных вариантов генов GH указывает на различия между отдельными генотипами по показателям продуктивности. Частота аллелей L и V составляет соответственно 0,859 и 0,140. Установлено достоверное преимущество по удою коров с генотипом LL по сравнению с гомозиготами VV, а также преимущество генотипов LL по содержанию жира в молоке по сравнению с гомозиготами LL на 0,07 %, VV – соответственно на 0,03%. Были установлены достоверные уровни зависимости удоев, содержания белка и жира в молоке, а также живого веса молочных коров от генотипа животных по локусам генов. Приведены результаты исследований по особенностям наследования племенной ценности коров по удою, массовой доли жира и белка в молоке. Темпы увеличения живой массы животных от рождения до первого отела были более высокими у животных с генотипом LL.

Ключевые слова: гены, ген соматотропного гормона, генетические маркеры, генотипы, аллели, полиморфизм, селекционные признаки, коровы-первотелки, украинская черно-пестрая молочная порода, племенная ценность, молочная продуктивность

Вступ. Головною метою молочного тваринництва є збільшення виробництва молока високої якості з добрими технологічними властивостями та, водночас, зменшення собівартості продукції. Для досягнення цієї мети необхідно розробити та впровадити методи підвищення ефективності селекції та прискорення темпів генетичного поліпшення популяцій молочної худоби [5, 6].

У прискоренні вдосконалення молочної продуктивності спеціалізованих порід великої рогатої худоби виділяють два основних напрямки використання молекулярно-генетичних маркерів. Перший ґрунтується на виявленні на ранніх стадіях постембріонального періоду онтогенезу цінних генотипів за продуктивними ознаками та стійкістю до хвороб на основі генетичного маркування селекційних ознак. Суть цього напрямку досліджень полягає у виявленні генів чи послідовностей ДНК, які генетично тісно зчеплені з «головними» генами, що відповідають за господарські корисні ознаки. В основі іншого методу лежить контроль поліморфізму структурних генів, що пов'язують з фізіологічними процесами [1, 2, 4].

Нині існує кілька способів генетичного маркування. Так, для формування ознак продуктивності тварин використовують молекулярно-генетичні маркери, що контролюють обмінні процеси організму, а для маркування стійкості до різних захворювань використовують маркери, пов'язані з імунною системою.

З огляду на те, що показники продуктивності тварин асоційовані з генами господарські корисних ознак, актуальним є питання підбору оптимальних поліморфних маркерних систем

для впровадження їх у практику селекційної роботи і оцінки генетичної структури порід великої рогатої худоби.

Впровадження молекулярно-генетичних методів у тваринництво пов'язане з розвитком технології ПЛР, що дало можливість проводити швидкий аналіз зв'язку алельних варіантів генів з продуктивністю [2,3].

Сьогодні виявлено низку генів, які контролюють господарські корисні ознаки сільськогосподарських тварин. Особливої уваги заслуговує вивчення поліморфізму гена гормону росту (GH), що є одним із регуляторів соматичного росту тварин. Широкий спектр дії гормону забезпечується наявністю в молекулі трьох різних структурно-функціональних ділянок, які утворилися в результаті посттрансляційних модифікацій білка, тому дія цього гормону на організм різностороння – інсуліноподібна, діабетогенна, лактогенна, жиромобілізує та нейротропна. Ген гормону росту складається із 5 екзонів і 4 інтронів, всього більш як дві тисячі пар нуклеотидів. Він зумовлює синтез гормону росту, який за структурою є поліпептидом, складається з 191 амінокислоти і кодується геном, який локалізований в хромосомі 19. У гені STG було виявлено декілька мутацій, але найбільш вивчено мутацію у екзоні V, оскільки ця мутація виявляється збільшенням росту і маси тіла тварин [2,7].

Для великої рогатої худоби європейської селекції відомо 4 алельні варіанти соматотропіну, які існують внаслідок нуклеотидних заміन на різних ділянках гена. Нуклеотидна заміна в екзоні кодона Leu (CTG) на кодон Val (GTG) в 127 позиції поліпептидного ланцюга зумовлює появу алельних варіантів L і V. Дослідники [2,6] зазначають, що ці алелі асоційовані з певними ознаками продуктивності великої рогатої худоби, зокрема алель L – з високою молочністю, алель V – високою м'ясною продуктивністю. З огляду на це, вивчення впливу різних алельних варіантів гена GH на молочні та м'ясні якості худоби є актуальним.

Метою роботи було вивчення поліморфізму гена гормону росту (GH) у тварин української чорно-рябої молочної породи великої рогатої худоби та зв'язку різних генотипів з ознаками продуктивності тварин.

Матеріали і методи досліджень. Об'єктом досліджень були проби крові корів української чорно-рябої молочної породи, що утримуються у СТОВ «Агросвіт» Київської області.

Визначення генотипів тварин за локусом гена GH здійснювали за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Геному ДНК виділяли із 100 мкл периферійної крові.

ПЛР проводили на ампліфікаторі Терцик (Росія). Реакційна суміш об'ємом 25 мкл містила: 67 мМ Tris-HCl (pH 8,8), 17 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Tween-20, 0,2 мМ dNTP, 1 од. Tag-полімерази, 50 нг геномної ДНК, 2,0 мМ MgCl₂ та по 0,4 мкМ кожного з праймерів.

Для ампліфікації гена STG використовували такі праймери:

5'-CTGCTCCTGAGGGCCCTT-3';

5'-GCGGCACTTCATGACCCT-3'

ПЛР проводили за такими температурними режимами: 4 хв за 94°C; 34 цикли: 15 с за 94°C, 15 с за 65°C, 15 с за 72°C; 5 хв за 72°C.

Після завершення програми ампліфікації продукти ПЛР обробляли рестриктазою Alu I (Сібензим, Новосибірськ). Реакційна суміш об'ємом 35 мкл містила 3,5 мкл 10[×] буферу для рестрикції, 1 од. рестриктази, 25 мкл ПЛР-суміші. Рестрикцію проводили за 37°C упродовж 12 год.

Для електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації використовували 2%-ний агарозний гель завдовжки 10 см. Електрофорез проводили у 0,5[×]ТВЕ буфері (50 мМ Tris-HCl (pH 8,3), 10 мМ Na₃ЕДТА, 90 мМ борної кислоти) впродовж 1 год за напруги 5 В/см. Після завершення електрофорезу гель обробляли бромистим етидієм (0,5 мкг/мл). Візуалізацію результатів електрофорезу проводили під ультрафіолетовими променями на транслюмінаторі. ПЛР-продукти фотографували за допомогою відеосистеми GelDoc XR System (BioRad).

Молекулярну масу ПЛР-продуктів визначали за маркером GeneRuller 100 bp (Fermentas).

За обліковими даними у господарстві аналізували показники надоїв, масової частки білка, масової частки жиру та показники динаміки живої маси досліджуваних тварин.

Результати досліджень. Серед досліджених корів української чорно-рябої молочної породи виявили 25 особин – носіїв генотипу LL; 5 особин носіїв генотипу LV і 2 особини носії генотипу VV за локусом гена соматотропного гормону (GH).

Рестрикційний аналіз ампліфікованих методом ПЛР фрагментів гена соматотропного гормону дав змогу визначити три різні генотипи: LL, LV, VV (рис. 1). У дослідженій групі тварин частота алелів L і V становила відповідно 0,859 та 0,140.

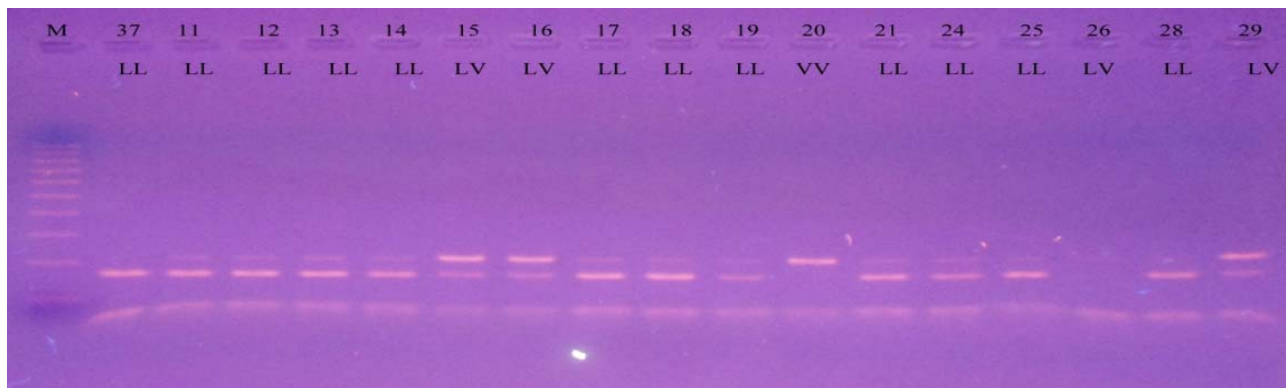


Рис. 1. Електрофореграма розділення продуктів рестрикції гена гормону росту у тварин української чорно-рябої молочної породи. М – маркер молекулярних мас; 37,11,12,13,14,17,18,19,21,24,25,28 – гомозиготні тварини з генотипом LL; 15,16, 26, 29 – гетерозиготні тварини з генотипом LV; 20 – гомозиготна тварина з генотипом VV.

У проведених нами дослідженнях встановлено позитивний вплив алеля L на збільшення надоїв у корів-первісток української чорно-рябої молочної породи.

Так, рівень надою у тварин з гомозиготним генотипом LL був вищим порівняно з гомозиготами VV на 2295 кг ($P>0,999$) та на 1446 кг більше ніж у гетерозигот LV (табл. 1).

За племінною цінністю встановлено вірогідну перевагу ($P>0,999$) тварин з гомозиготним генотипом LL над генотипом VV на 556,9 кг та незначну перевагу над тваринами з гетерозиготним генотипом LV ($P<0,95$).

1. Молочна продуктивність корів з різними генотипами за геном гормону росту

| Показники | Генотипи | | |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | LL (n=25) | LV(n=5) | VV(n=2) |
| | $\bar{X} \pm m_x$ | $\bar{X} \pm m_x$ | $\bar{X} \pm m_x$ |
| Надій за 305 днів, кг | 6557±164,1*** | 5111±697,0 | 4262±127,9 |
| ПЦ за надоєм, кг | +653,1±5,60*** | +442,8±173,44 | +96,2±40,70 |
| Вміст жиру в молоці, % | 3,81±0,019 | 3,88±0,013** | 3,85±0,007* |
| ПЦ за вмістом жиру в молоці, % | -0,03±0,024 | -0,20±0,163 | -0,26±0,434 |
| Вміст білка в молоці, % | 3,12±0,012 | 3,10±0,011 | 3,08±0,007 |
| ПЦ за вмістом білка в молоці, % | -0,32±0,007 | -0,34±0,006 | -0,35±0,004 |
| Молочний жир, кг | 250,5±6,49*** | 198,6±27,36 | 164±4,94 |
| ПЦ за кількістю мол. жиру, кг | -1,32±1,952*** | -17,04±8,239 | -27,2±1,19 |
| Молочний білок, кг | 205,1±5,12*** | 158,4±21,58 | 131,5±3,53 |
| ПЦ за кількістю мол. білка, кг | -4,88±1,53*** | -18,9±6,48 | -27,0±1,06 |
| Σ молочного жиру і білка, кг | 455,6±11,67*** | 357,1±48,94 | 296,1±8,48 |

Примітка. * – $P>0,95$; ** – $P>0,99$.

За масовою часткою жиру в молоці тварини з генотипом LV мали вищі показники порівняно з генотипом LL на 0,07 % ($P>0,99$), а порівняно з генотипом VV – відповідно на 0,03%. Тварини з гомозиготним генотипом VV, за даним показником продуктивності, переважали тварин з генотипом LL на 0,04% ($P>0,95$).

За масовою часткою білка в молоці кращими були тварини з генотипом LL, але вірогідної різниці як за абсолютними показниками, так і за племінною цінністю не встановлено. Тварини з гетерозиготним генотипом LV за масовою часткою білка, займають проміжне положення між гомозиготами LL і VV.

За кількістю молочного жиру, молочного білка та сумарною їх кількістю перевагу мають тварини з генотипом LL порівняно з гомозиготами VV відповідно на 86 ($P>0,999$), 73,6 ($P>0,999$), 159,6 кг ($P>0,999$), тому можна говорити про позитивний вплив алеля L на кількість молочного жиру та білка в молоці. Тварини з гетерозиготним генотипом LV за кількістю молочного жиру, білка та їх сумарною кількістю займають проміжне положення між гомозиготами LL і VV ($P<0,95$).

Племінна цінність за кількістю молочного жиру, молочного білка та їх сумарною кількістю у тварин з різними генотипами виявилася від'ємною, але кращими були тварини з гомозиготним генотипом LL, вони вірогідно переважали за племінною цінністю гомозиготних тварин VV ($P>0,999$). Перевага, але не вірогідна, за племінною цінністю була і над гетерозиготними тваринами LV.

Стосовно показників живої маси теличок у різні вікові періоди (табл. 2), найбільшу величину живої маси встановлено у новонароджених телят, а також у телиць у віці 12 місяців та в корів-первісток з генотипом LL, однак різниця між генотипами була статистично невірогідною ($P<0,95$).

2. Жива маса тварин з різними генотипами за геном гормону росту (GH) української чорно-рябої молочної породи

| Показники | Генотипи | | |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | LL (n=25) | LV(n=5) | VV(n=2) |
| | $\bar{X} \pm m_x$ | $\bar{X} \pm m_x$ | $\bar{X} \pm m_x$ |
| новонароджені | 39,6±1,74 | 31,4±5,09 | 36,1±1,41 |
| у віці 6 міс | 167,2±3,18 | 166,2±11,34 | 172,5±3,53 |
| у віці 12 міс | 312,6±4,07 | 287,6±19,61 | 294,2±5,65 |
| у віці 18 міс | 435,2±4,82 | 441,4±25,62 | 425,3±56,55 |
| корів-первісток | 514,2±11,97 | 507,2±34,11 | 509,5±3,53 |

Висновок. Дослідження генетичної структури української чорно-рябої молочної породи за геном гормону росту показали, що частота алелів L і V становить 0,859 і 0,140. Найбільші надой молока отримано від тварин з гомозиготним генотипом LL ($P>0,99$). Тварини з генотипом LV переважали за масовою часткою жиру в молоці тварин з генотипом LL ($P>0,99$), що свідчить про можливість використання цього генетичного маркера у селекції молочної худоби за жирномолочністю. За кількістю молочного жиру, молочного білка та сумарною їх кількістю перевагу ($P>0,999$) мають тварини з генотипом LL. За племінною цінністю встановлено вірогідну перевагу ($P>0,999$) тварин з гомозиготним генотипом LL над генотипом VV та незначну перевагу над тваринами з гетерозиготним генотипом LV ($P<0,95$).

Встановлено невірогідну перевагу ($P<0,95$) за живою масою за контрольними віковими періодами у тварин з генотипом LL над генотипами VV та LV. Подальші дослідження буде спрямовано на вивчення генетичної структури популяції української чорно-рябої молочної породи за локусами інших генів, асоційованих з господарськи корисними ознаками.

БІБЛІОГРАФІЯ

- Аналіз залежності молочної продуктивності корів від поліморфізму окремих структурних генів / М. І. Гіль, О. В. Городна, С. С. Крамаренко, О. Ю. Сметана // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. – К., 2011. – Вип. 160. – Ч. 2. – С. 285–293.
- Гіль, М. І. Аналіз генетичної структури молочної худоби окремих порід України / М. І. Гіль, Т. А. Нагорнюк, Л. Г. Мартинюк // Агроєкологічний журнал. – 2008. – № 4. – С. 68–71.

3. Глазко, В. И. ДНК-технологии и биоинформатика в решении проблем биотехнологий млекопитающих / В. И. Глазко, Е. В. Шульга, Т. Н. Дымань, Г. В. Глазко. – Белая Церковь, 2001. – 488 с.

4. Молекулярно-генетичні маркери селекційної роботи і стійкості, щодо чинників екологічного стресу / В. І. Глазко, К. В. Иванченко, Р. В. Облап, Г. В. Глазко // Вісник аграрної науки. – 2002. – № 11. – С. 17.

5. Корохов, Н. П. Физическое картирование и секвенирование микросателитсодержащих последовательностей ДНК *Bos Taurus L.* / Н. П. Корохов, Ю. А. Логинова, В. Н. Симоненко // Молекулярно-генетические маркеры животных : тез. докл. междунар. конф. ; под ред В. И. Глазко. – К. : Аграрна наука, 1996. – С. 12–13.

6. Рудик, І. А. Селекція молочної та молочно-м'ясної худоби / І. А. Рудик // У кн. Ю. Ф. Мельник, В. П. Коваленко А. М. Угнівенко [та ін.] ; за заг. ред. Ю.Ф. Мельника, В. П. Коваленка та А. М. Угнівенка. Селекція с.-г. тварин. – К. : Інтас, 2008. – Розд 2. – С. 55–124.

7. Hansson, B. The correlation between heterozygosity and fitness in natural populations / B. Hansson, L. Westerberg // *Mol. Ecol.* – 2002. – Vol. 11. – № 2. – P. 2467–2474.

REFERENCES

1. Hyl', M. I., O. V. Horodna, S. S. Kramarenko, and O. Yu. Smetana. 2011. Analiz zalezhnosti molochnoyi produktyvnosti koriv vid polimorfizmu okremykh strukturnykh heniv – Analysis of milk production of cows depending on individual structural gene polymorphism. *Nauchnyi vestnyk Natsyonal'noho unyversyteta byoresursov y pryrodopol'zovanyya Ukrainy: Tekhnolohiya vyrobnytstva i pererobky produktsiyi tvarynnyystva – Scientific Bulletin of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine: Manufacturing and processing of livestock products.* 160 (2): 285–293 (in Ukrainian).

2. Hyl', M. I., T. A. Nagornyuk, and L. G. Martynyuk. 2008. Analiz henetychnoyi struktury molochnoyi khudoby okremykh porid Ukrayiny – Analysis of the genetic structure of individual breeds of cattle Ukraine. *Ahroekolohichnyy zhurnal – Agro-ecological magazine.* 4: 68-71 (in Ukrainian).

3. Glazko, V. I., E. V. Shul'ga, T. N. Dyman', and G. V. Glazko. 2001. *DNK-tekhnologii i bioinformatika v reshenii problem biotekhnologiy mlekopitayushchikh –DNA technology and bioinformatics in solving the problems of biotechnology mammals.* Belaya Tserkov'. 488 (in Russian).

4. Hlazko, V. I., K. V. Yvanchenko, R. V. Oblap, and H. V. Hlazko. 2002. Molekulyarnohenetychni markery selektsiynoyi roboty i stiykosti, shchodo chynnykiv ekolohichnoho stresu – Molecular genetic markers and resistance breeding concerning environmental stress factors. *Byulleten selskohozyaystvennyih nauk – Bulletin of Agricultural Science.* 11: 17 (in Ukrainian).

5. Korokhov, N. P., Yu. A. Loginova, and V. N. Simonenko. 1996. Fizicheskoe kartirovanie i sekvenirovanie mikrosatelitsoderrzhashchikh posledovatel'nosten DNK *Bos Taurus L.* Molekulyarno-geneticheskie markery zhivotnykh – Physical mapping and sequencing of microsatellite DNA sequences containing *Bos Taurus L.* Molecular genetic markers animals. *Agrarna nauka –Agricultural science* 12–13 (in Russian).

6. Rudy`k, I. A., Yu. F. Mel'ny`k, V. P. Kovalenko and A. M. Ugnivenko. 2008. Seleksiya molochnoyi ta molochno-m"yasnoyi khudoby – Selection of dairy and dairy-beef cattle. *Selekciya sil'skohospodars'kykh tvaryn – Selection of agricultural animals.* Intas. 2: 55–124 (in Ukrainian).

7. Hansson, B., and L. Westerberg. 2002. The correlation between heterozygosity and fitness in natural populations. *Mol. Ecol.* 11 (12): 2467–2474.