

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКИ ТВАРИН

РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКА ТВАРИН

Міжвідомчий тематичний
науковий збірник

Випуск **47**

Київ
АГРАРНА НАУКА
2013

УДК 636.082.25

*Рекомендовано до друку вченою радою
Інституту розведення і генетики тварин НААН
25 березня 2013 р. (протокол № 416)*

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

С.Ю. Рубан (відповідальний редактор),
О.М. Федота (заступник відповідального редактора),
І.С. Бородай (відповідальний секретар)

ЧЛЕНИ РЕДКОЛЕГІЇ:

**М.І. Башенко, А.А. Гегя, М.Я. Єфіменко, М.В. Зубець, І.І. Ібатулін,
С.І. Ковтун, В.С. Коновалов, К.В. Копилов, П.І. Люцканов,
І.П. Петренко, Б.Є. Подоба, Ю.П. Полупан, П.Н. Прохоренко,
В.І. Шеремета**

Викладено результати наукових досліджень з питань розведення, селекції, генетики, біотехнології, відтворення та збереження генофонду сільськогосподарських тварин.

Розраховано на науковців, викладачів, аспірантів та студентів аграрних вищих навчальних закладів, спеціалістів сільського господарства, фермерів.

Засновник – Інститут розведення і генетики тварин НААН
*Свідоцтво про державну реєстрацію
№ 16796-5368 ПР від 17.06.2010 р.*

Адреса редакційної колегії:

Інститут розведення і генетики тварин НААН
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське,
Бориспільський район, Київська область, 08321.
Телефони: (04595) 30-041, 30-045
Факс (04595) 30-540
E-mail: irgtvudav@ukr.net

© Інститут розведення і генетики тварин НААН, 2013

ЗМІСТ

РУБАН С.Ю., ФЕДОТА О.М.
НАПРЯМИ ОРГАНІЗАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНОЇ РОБОТИ
В МОЛОЧНОМУ ТА М'ЯСНОМУ СКОТАРСТВІ УКРАЇНИ5

**ГУЗЄВ І.В., БІРЮКОВА О.Д., ВИШНЕВСЬКИЙ Л.В.,
РЕЗНІКОВА Н.Л., КОСТЕНКО О.І.**
СТРАТЕГІЧНІ НАПРЯМИ РОБОТИ ЩОДО ЗБЕРЕЖЕННЯ
ГЕНОФОНДУ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН
В УКРАЇНІ13

ГЕНЕТИКА

БУЛЬЧЕНКО І. О.
АНАЛІЗ РІВНЯ І СПЕКТРА ГЕНЕТИЧНОГО ВАНТАЖУ РІЗНИХ ВИДІВ
СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПТИЦІ..... 24

ГЕРІЛОВИЧ А.П., ГОРАЙЧУК І.В, БОЛОТІН В.І., СОЛОДЯНКІН О.С.
ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЗБУДНИКА ВІРУСНОЇ ДІАРЕЇ ВЕЛИКОЇ
РОГАТОЇ ХУДОБИ В ГОСПОДАРСТВАХ ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ..... 33

КЛИМЕНКО В. В., ЛЫСЕНКО Н. Г., ЛЯН ХАОЮАНЬ
ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКОЕ КЛОНИРОВАНИЕ В ГЕНЕТИКЕ
И СЕЛЕКЦИИ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА..... 40

**МАРЗАНОВА С.Н., ДЕВРИШОВ Д.А., ТУРБИНА И.С., НАГОРНЫЙ В.А.,
АЛЕКСЕЕВ Я.И., КОНОВАЛОВА Н.В., СОЧИВКО Д.Г., ЛЮЦКАНОВ П.И.,
ТОХОВ М.Х., МАРЗАНОВ Н.С.**
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ МУТАНТНОГО
АЛЛЕЛЯ, ВЫЗЫВАЮЩЕГО КОМПЛЕКС АНОМАЛИЙ
ПОЗВОНОЧНИКА (СVM) ЧЕРНО-ПЕСТРОГО СКОТА 56

МЕТЛИЦЬКА О.І., НОР В.Ю.
ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ
ЯК ОБГРУНТУВАННЯ ШЛЯХІВ ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНОФОНДУ
СВИНЕЙ МИРГОРОДСЬКОЇ ПОРОДИ61

ПОДОБА Ю.В.
АНАЛІЗ ДАНИХ СВІТОВОГО ГЕНЕТИЧНОГО БАНКУ:
ОДНОНУКЛЕОТИДНІ ПОЛІМОРФІЗМИ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО
ГЕНОМУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ПОРІД ШАРОЛЕ
ТА ЛІМУЗИН 73

ТКАЧИК Т. Е.
ОЦІНЮВАННЯ ВПЛИВУ ГЕННИХ МОДИФІКАЦІЙ НА МІНЕРАЛЬНИЙ
СКЛАД ВЕГЕТАТИВНОЇ МАСИ КУКУРУДЗИ ЯК СКЛАДОВОЇ КОРМУ
ДЛЯ ТВАРИН 80

ФИЛЕНКО А.Л., ВАСИЛЬЕВ В.А., МИДЕЛАШВИЛИ В.В., МОИСЕЕВА И.Г., СЕВАСТЬЯНОВА А.А., СЕМЕНОВА С.К. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОРОД <i>GALLUS GALLUS L.</i> С ПОМОЩЬЮ ДНК-ФИНГЕРПРИНТИНГА.....	86
--	----

ШЕВЧЕНКО Є.А., КОПИЛОВ К.В., ФЕДОТА О.М. ГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА КРОЛІВ НОВОЗЕЛАНДСЬКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ ЗА ПОЛІМОРФНИМИ ВАРІАНТАМИ С34Т ГЕНА <i>MSTN</i> ТА G2464A ГЕНА <i>PGR</i>	93
--	----

БІОТЕХНОЛОГІЯ

ЗЮЗЮН А.Б. МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ООЦИТ-КУМУЛЮСНИХ КОМПЛЕКСІВ СВІЙСЬКИХ КІЗ (<i>CAPRA HIRCUS</i>).....	103
--	-----

ШЕРЕМЕТА В.І., ВЕРГЕЛЕС О.П. ЛІПІДНИЙ ПРОФІЛЬ У КРОВІ КОРІВ-ДОНОРІВ ЗА СТИМУЛЯЦІЇ СУПЕРОВУЛЯЦІЇ ГОНАДОТРОПІНОМ СЖК СПІЛЬНО З НЕЙРОТРОПНО-МЕТАБОЛІЧНИМ ПРЕПАРАТОМ	110
---	-----

РОЗВЕДЕННЯ ТА СЕЛЕКЦІЯ

БРАТУШКА Р.В. ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА ПЕРВОГО ОТЕЛА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХОЗЯЙ- СТВЕННОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОРОВ УКРАИНСКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ.....	119
--	-----

ВАСИЛІВ А.П. ЯКІСНІ ПОКАЗНИКИ М'ЯЗОВОЇ І ЖИРОВОЇ ТКАНИН ВІДГОДІВЕЛЬНОГО МОЛОДНЯКУ ПОРІД ЛАНДРАС, ВЕЛИКА БІЛА, ДЮРОК, ГЕМПШИР, П'ЄТРЕН.....	126
--	-----

ФЕДАК В.Д., ФЕДАК Н.М. М'ЯСНА ПРОДУКТИВНІСТЬ ТА ЗАБІЙНІ ПОКАЗНИКИ БУГАЙЦІВ ВОЛИНСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ РІЗНИХ КОНСТИТУЦІОНАЛЬНИХ ТИПІВ.....	131
---	-----

ВІДТВОРЕННЯ

ГОРОБЕЦЬ В.О. ВІДТВОРЮВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ СВИНОМАТОК ЗА РІЗНИХ ВАРІАНТІВ ПІДБОРУ	139
--	-----

ЗБЕРЕЖЕННЯ

БАСОВСЬКИЙ Д.М. ПРОБЛЕМИ ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНОФОНДУ ЛЕБЕДИНСЬКОЇ ПОРОДИ.....	145
ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ	152

НАПРЯМИ ОРГАНІЗАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНОЇ РОБОТИ В МОЛОЧНОМУ ТА М'ЯСНОМУ СКОТАРСТВІ УКРАЇНИ

С.Ю. РУБАН, О.М. ФЕДОТА

*Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)
afedota@mail.ru*

Розглянуто напрями організації селекційної роботи в молочному та м'ясному скотарстві України на основі сучасних досягнень генетики та біотехнології. З урахуванням особливостей стану галузі скотарства країни запропоновано систему її науково-виробничого забезпечення на найближчу перспективу, що розширює можливості отримання цінного племінного матеріалу як для внутрішнього, так і зовнішнього ринків.

Ключові слова: молочне та м'ясне скотарство, геномна оцінка, інбридинг, селекційна робота

Пріоритетна підтримка національного товаровиробника і імпортозаміщення є ключовими напрямками розвитку економіки країни [1]. Одним із складників такого процесу є реалізація експортного потенціалу України на основі розширення зовнішніх ринків збуту для вітчизняного товаровиробника та стимулювання інвестиційної діяльності, тісно пов'язаної з використанням нових технологій як у виробничому процесі, так і наукових дослідженнях.

Аналізуючи стан селекційного забезпечення галузі молочного та м'ясного скотарства, можна констатувати низку очевидних фактів і виділити у зв'язку з цим декілька основних напрямів його розвитку.

Ринок торгівлі племінними ресурсами (тварини, сперма, ембріони) залишається як для країн Євросоюзу, так і України достатньо привабливим. Тільки за період 2006–2011 рр. на територію Російської Федерації було завезено з-за кордону 345 тис. гол. великої рогатої худоби [2]. Основними країнами-експортерами худоби були Німеччина (70 тис. гол.), Нідерланди (64 тис. гол.) та Австралія (67 тис. гол.). Навіть при середній ціні на одну телицю, яка стрімко зростає і сягає нині близько 2,7 тис. євро, загальна вартість поголів'я у 345 тис. гол., завезеного до Росії, становить близько 1 млрд євро.

У табл. 1 наведено дані щодо репродукції племінного матеріалу в ряді країн світу. Кількість телиць, «вільних» для реалізації, залежить від чисельності під-

© С.Ю. Рубан, О.М. Федота, 2013

контрольного поголів'я і становить 3–8% його загальної кількості. Так якщо в Німеччині нині є 4 млн корів, з яких 85% перебувають під племінним контролем, тільки 7% може бути представлено для продажу, оскільки останні будуть використані для ремонту власного стада.

1. Підконтрольне поголів'я та можливості реалізації племінних ресурсів

Країна	Корови		Реалізація племінних тварин, тис. гол.	Відсоток від підконтрольного поголів'я корів
	всього, тис. гол.	підконтрольне поголів'я, %		
Нідерланди	1413	86	60,0	5
Німеччина	4087	85	240,0	7
Канада	987	67	25,0	3
Угорщина	265	74	10,0	5
Ізраїль	98	98	—	—
Франція	3800	68	180,0	7
Україна	2580	5,6	6,740	5

В Україні такі резерви явно обмежені і становлять 5,0% загальної чисельності підконтрольних корів, або 23% кількості корів, зосереджених у сільськогосподарських підприємствах, що є дуже низьким показником порівняно з іншими країнами (табл. 1) і потребує виходу з такого становища.

Формально стан господарств характеризує низький рівень зацікавленості власників займатись племінною справою та покладатись в останній час на імпортні генетичні ресурси, які часто надходять на територію України за тимчасово демпінговими цінами. Це частково пов'язано з невиконанням закону «Про захист національного товаровиробника від демпінгового імпорту», коли демпінг класифікується як ввезення на митну територію країни імпорту товару за цінами, нижчими від порівняної ціни на подібні товари у країні експорту. Потужні зарубіжні фірми користуються таким прийомом для завоювання ринку товарів та послуг в інших країнах.

Нині є інші ефективні підходи, спрямовані на розширення чисельності племінного маточного поголів'я та оцінювання плідників у господарствах на меншому підконтрольному поголів'ї, завдяки використанню сексованої сперми або геномного типування. Так, за даними H.D. Norman, J.L. Hutchison, R.H. Miller [3], лише за 2008 р. у фермерських господарствах США осіменено майже 650 тис. корів і телиць сексованою спермою для отримання в наступному поколінні племінних телиць. Результати такої роботи (табл. 2) свідчать про високу ефективність зазначеного біотехнологічного прийому. В цілому даний підхід дає можливість підвищити вихід телиць у приплоді на 15–20% з розрахунку на 100 корів, що є суттєвим резервом для отримання ремонтного молодняку як для власних потреб, так і продажу за кордон.

2. Досвід використання сексованої сперми у США (H.D. Norman, J.L. Hutchison, R.H. Miller, 2010)

Показник	Телиці парувального віку	Корови
Усі запліднення (2008 р.)	377572	4161519
Відсоток господарств, які використовували сексовану сперму	34,2	10,6
Відсоток запліднень сексованою спермою		
З першого разу	41	26
З другого »	20	18
З третього »	12	10
Загальний відсоток	73	54
Відсоток запліднень традиційним штучним осіменінням		
З першого разу	59	32
З другого »	22	21
З третього »	9	30
Загальний відсоток	90	83

Навіть в умовах обмеженої кількості племінних господарств України, де нараховується 135140 тис. корів, є можливість додатково отримати до 20–27 тис. племінних телиць, значну частину з яких можна було б реалізувати за кордон. Технологія отримання сексованої сперми загальновідома і може бути впроваджена в Україні в практичну роботу за наявності відповідного обладнання.

Одне з основних завдань племінного скотарства – оцінювання та відбір плідників за якістю потомства. За даними наведених розрахунків (табл. 3), для повного забезпечення внутрішнього ринку спермопродукцією переважно вітчизняного виробництва щороку в Україні необхідно ставити на оцінювання близько 660 плідників з наступним їхніх тестуванням за власною продуктивністю та якістю потомства, що потребує первинного осіменіння 363-тисячного поголів'я корів, оскільки 50% приплоду будуть бугайці, а 50% – телички.

3. Загальна потреба галузі молочного скотарства України в необхідному селекційному матеріалі

Показник	Значення
1	2
Загальна кількість корів, млн гол.	2,580
У т.ч.: в господарствах населення (в дужках % штучного осіменіння) в сільськогосподарських підприємствах	2,0 (80) 0,580 (100)
Щорічна потреба в спермопродукції при витратах 4 дози на одне плідне осіменіння, млн доз	10,6
Необхідна кількість плідників для накопичення 10,5 млн доз за умов отримання від 1 плідника за рік 20 тис. доз, гол.	530

1	2
Кількість плідників-лідерів, які щороку вилучаються з оцінювання за умов їхнього наступного 4-річного використання, гол.	132
Кількість плідників для щорічної постановки на оцінювання за величини інтенсивності селекції 1:5, гол.	660
Кількість плідників, поставлених на оцінювання за нащадками після вибракування 100 гол. за енергією росту та якістю спермопродукції, гол.	560
Необхідна кількість маточного поголів'я для щорічного оцінювання 132 плідників за умови отримання 100 дочок від одного бугая, гол.	363000

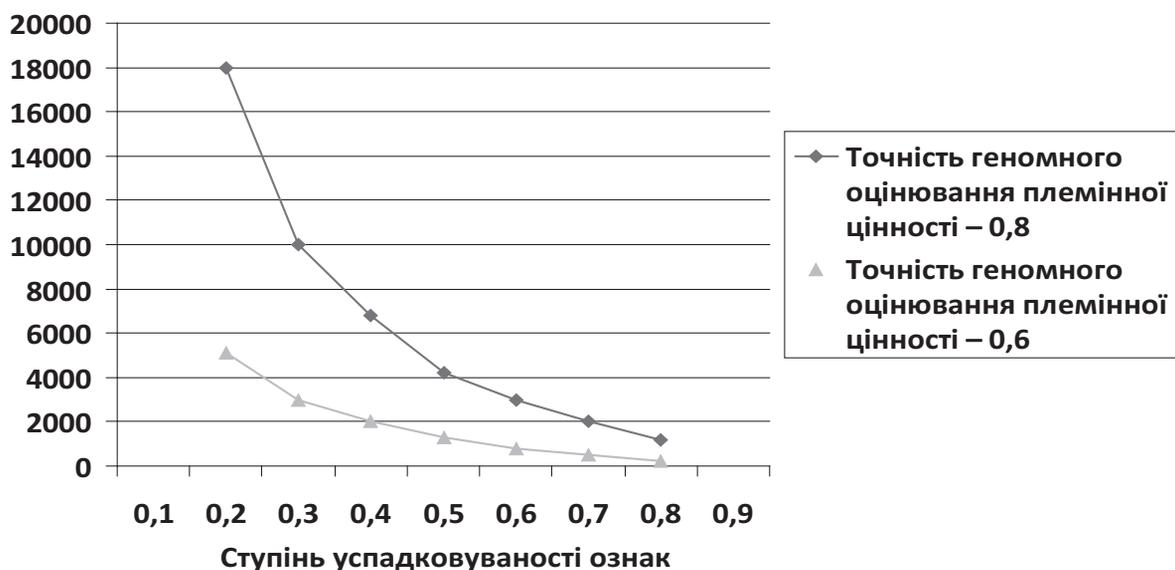
Якщо для використання спермопродукції поліпшувачів у популяції підлягає осіменінню 75–80% загального стада корів, то за цих умов в Україні недостатньо підконтрольного поголів'я для оцінювання плідників, тобто його чисельність необхідно подвоїти, що практично неможливо.

Досвід роботи фахівців наукових та комерційних установ різних країн свідчить про те, що розроблення системи геномного оцінювання для будь-якої породи для подальшого визначення племінної цінності тварин можливе на відносно меншому підконтрольному поголів'ї. Так, за даними К. Weigel (2013) [4], чисельність підконтрольної (референтної) популяції залежить від величини успадкованості селекційних ознак, що аналізуються, і забезпечує відповідну точність прогнозу. В середньому така референтна популяція може складатись з 5–10 тис. тварин (рисунок).

На практиці референтні стада – це стада, де всі тварини в приплоді, як телиці, так і бугайці, можуть бути основою для подальшого відбору. Так якщо референтна популяція нараховує 10 тис. корів, від яких можна отримати 4,5–5 тис. бугайців з наступною інтенсивною їхньою селекцією, навіть при відборі 1:6, то з 4,5–5 тис. бугайців можна відібрати за геномними тестами 750–800 гол. поліпшувачів для наступного селекційного використання навіть на популяції 6–6,5 млн корів. К. Weigel (2013) наводить основні економічні переваги такої системи, аргументуючи це розрахунками щодо сукупних витрат – на оцінку плідника за традиційною схемою витрачається до 20 тис. дол., а за геномними тестами – 200–250 дол.

У процесі геномного тестування аналізується до 800000 однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) або позицій організму та на підставі результатів формується оцінка племінної цінності тварини, але без уточнення конкретних алельних варіантів генів чи генотипу [5]. Тому актуальним є паралельне незалежне тестування окремих генів тварин, які зумовлюють економічно важливі ознаки чи спадкові аномалії.

Кількість тварин для проведення оцінювання з певною точністю



Необхідна кількість референтної популяції для отримання певної точності геномного оцінювання плеємінної цінності тварин (К. Weigel, 2013)

Так, наприклад, французька компанія Ingenuomics на підставі геномного тестування прогнозує цінність тварини породи лімузин за такими ознаками, як виживаність приплоду при розтеленні, потенціал росту, темпи приросту м'язової маси, розвиток скелета, мінеральна щільність кісткової тканини, легкість отелення, молочна продуктивність. Крім того, проводиться незалежне тестування мутацій у гені міостатину (*MSTN*), які зумовлюють збільшення м'язової маси тварини [6]. Офіційно у Франції здійснюють геномне оцінювання тварин монбельярдської, голштинської та нормандської порід. У каталогах бугаїв породи монбельярд додатково наводиться характеристика тварин за результатами тестування окремих генів, пов'язаних з економічно важливими ознаками, наприклад генів, пов'язаних з казеїновими фракціями молока [7]. У США для тварин голштинської породи, крім геномного оцінювання, додатково проводиться тестування на наявність алелів, які зумовлюють спадкові аномалії, наприклад SVM (комплексна вада хребта), brachyspina [8].

В Україні в умовах обмеженого підконтрольного поголів'я плеємінної частини (140 тис. корів) єдиним шляхом є створення системи геномного оцінювання тварин вітчизняної селекції та відповідних панелей для тестування генів, пов'язаних з економічно важливими ознаками чи спадковими аномаліями. Це дасть змогу не лише скоротити час оцінювання, а й підвищити селекційну та економічну ефективність у тваринництві, забезпечивши при цьому спермопродукцією від кращих плідників як власний, так і найближчі закордонні ринки. Такі підходи дають можливість скоротити затрати на селекційний процес у 15–20 разів за суттєвого розширення експортного потенціалу України.

Система формування високопродуктивних стад — робота досить копітка і важлива, що завдяки значному зростанню генетичного потенціалу тварин забезпечує їхню конкурентоспроможність на ринку виробництва продукції молочного або м'ясного скотарства. Таким чином, від вдалого поєднання батьківських і материнських пар залежить майбутнє. У зв'язку з цим генетичне оцінювання дає можливість точного прогнозування результатів такого підбору та відповідно пошуку пар.

Не тільки перспективним, але й обов'язковим при підборі пар є урахування їхніх генетичних особливостей щодо генетичного вантажу, оскільки однією з найбільш важливих проблем у тваринництві України є виявлення серед тварин носіїв алелів важких спадкових патологій, таких як BLAD (дефіцит адгезивності лейкоцитів), DUMPS (дефіцит уридинмонофосфат синтетази), BC (цитрулінемія), SVM (комплексна вада хребта, FXID (дефіцит фактора XI, порушення згортання крові) [9]. За даними P.M. Van Raden et al. (2011 р.), у США застосування методів геномної оцінки тварин на вибірці з 58453 голштинів, 5288 джерсеїв, 1991 брауншвіца показало, що відсоток носіїв найбільш поширених аутосомно-рецесивних дефектних генів сягає 2,7–6,4 [10]. Тобто кожна майже 16-та тварина несе алель важкої спадкової патології та має ризик у 25% мати хворого або нежиттєздатного нащадка при схрещуванні з такою самою твариною. Відомо, що серед молочних порід найбільш обтяженою щодо генетичного вантажу є голштинська порода, і оскільки вона досить широко представлена на території України, для запобігання розповсюдженню важких патологій та зниженню рівня відтворної здатності тварин необхідним є не тільки генетичне тестування самих тварин, але і спермопродукції.

Поширення моногенних рецесивних патологій, як складової репродуктивних втрат, та зміни показників економічно важливих ознак відбуваються внаслідок збільшення коефіцієнта інбридингу серед різних порід великої рогатої худоби, що є однією з проблем сучасного тваринництва в Україні [11]. D.W. Bjelland (2013 р.), завдяки застосуванню методів геномного оцінювання тварин розрахував ступінь зміни гомозиготності на 1% та зміни при цьому основних господарськи корисних ознак (табл. 4) [12]. Тому актуальним є розроблення алгоритму підбору пар залежно від їхніх генетичних особливостей.

Нині першочерговим завданням розвитку тваринництва України є створення й науковий супровід референтних стад вітчизняних порід молочного та м'ясного напрямів для створення системи національного генетичного оцінювання тварин. Тому подальший розвиток молочного скотарства потребує тісної співпраці з міжнародними компаніями, які проводять відповідне геномне оцінювання тварин. Саме в цій ситуації важлива консолідація наукових установ та дослідних господарств для створення науково-виробничих об'єднань для подальшого розвитку та реформування системи тваринництва в Україні [13]. Можлива консолідація наукових установ, господарств з приватними та громадськими організаціями і підприємствами, пов'язаними з молочним та м'ясним виробництвом, для розвитку системи повного супроводу господарств різних форм власності.

4. Вплив інбредної депресії на показники продуктивності, відтворення та здоров'я тварини (D.W. Bjelland et al., 2013)

Ознаки	Зміна гомозиготності на 1%
Надій	–15,9 кг
Вихід молочного жиру	–1,37 кг
Вихід молочного білка	–0,6 кг
Сервіс-період	+1,96 дня
Мастит	+ 1,43%
Метрит	+8,89%
Пневмонія	+1,67%
Важкість отелення	+1,40%

Таким чином, сучасні досягнення генетики та біотехнології у поєднанні з підходами традиційної селекції дають можливість формувати стада з певним рівнем господарськи корисних ознак. Спрямування селекційного процесу важливо орієнтувати не тільки на кількісні показники тваринницької продукції, тобто підвищення продуктивності, відтворної здатності тварин, запобігання інбридингу та накопиченню генетичного вантажу, а й на якісні – отримання цільової продукції з урахуванням замовлень переробних підприємств, демографічної ситуації, найбільш поширених захворювань та харчової культури населення України. Це забезпечить вирішення питань не лише харчової безпеки людини, але і генетичної безпеки тварин та населення [14], яка є складовою національної безпеки держави в цілому.

1. *Морозов М.* Приоритеты – поддержка национального товаропроизводителя и импортозамещение: интервью с первым вице-премьер-министром Украины Сергеем Арбузовым, 18 февраля 2013 г. / Морозов М. – Бизнес. – 2013. – № 7 (1046). – С. 22–27.

2. *Шаркаева Г.* Мониторинг импортированного на территорию Российской Федерации крупного рогатого скота / Шаркаева Г. // Молочное и мясное скотоводство. – 2013. – № 1. – С. 14–16.

3. *Norman H.D.* Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States / H.D. Norman, J.L. Hutchison, R.H. Miller // Journal of Dairy Science. – 2010. – Vol. 93. – P. 3880–3890.

4. *Assets of imputation to ultra-high density for productive and functional traits / J.A. Jiménez-Montero [et al.] // J. Dairy Sci. – 2013. – Sep. 96. – № 9. – P. 6047–6058.*

5. *Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges / V.J. Hayes [et al.] // Journal of Dairy Science. – 2009. – V. 92, № 2. – P. 433–443.*

6. *Ingenomix.* Génomique animale & ingénierie : Site Information [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.ingenomix.fr>. – Заголовок з екрана.

7. *Coopex* myntbéliarde : The myntbéliarde world wide [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.coopex.com>. – Заголовок з екрана.

8. *Holstein Association USA, The World's Largest Dairy Cattle Breed Association* [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.holsteinus.SA.com>. – Заголовок з екрана.

9. *Meydan H.* Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey / H. Meydan, M.A. Yildiz, J.S. Agerholm // *Acta. Vet. Scand.* – 2010. – 52. – № 1. – P. 56.

10. *Invited review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls* / P.M. Van Raden [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2009. – № 92. – P. 16–24.

11. *Рубан С.Ю.* Моніторинг інбридингу серед голштинських бугаїв в Україні / С.Ю. Рубан, О.Д. Бірюкова, Д.М. Басовський // *Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. праць; відп. ред. В.А. Кунах.* – К.: Логос, 2013. – Т. 13. – С. 237–240.

12. *Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding* / D.W. Bjelland [et al.] // *Journal of Dairy Science.* – 2013. – Volume 96, Issue 7. – P. 4697–4706.

13. *Присяжнюк М.В.* Концептуальні засади інноваційно-інвестиційного розвитку Національної академії аграрних наук України / М.В. Присяжнюк, В.Ф. Петриченко, С.А. Володін // *Економіка АПК.* – 2013. – № 4. – С. 3–22.

14. *Федота О.М.* Генодерматозы в исследовании проблем генетической безопасности человека: автореф. дис. на соискание науч. степени д-ра биол. наук : 03.00.15 / Федота О.М.; Гос. учр-ние «Нац. науч. центр. радиац. мед. НАМНУ». – К., 2012. – 40 с.

НАПРАВЛЕНИЯ ОРГАНИЗАЦИИ СЕЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЫ В МОЛОЧНОМ И МЯСНОМ СКОТОВОДСТВЕ УКРАИНЫ

С.Ю. Рубан, А.М. Федота

Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)

Рассмотрены основные направления организации селекционной работы в молочном и мясном скотоводстве Украины на основе современных достижений генетики и биотехнологии. С учетом особенностей состояния отрасли скотоводства страны предложена система ее научно-производственного обеспечения на ближайшую перспективу, которая расширяет потенциальные возможности получения ценного племенного материала как для внутреннего, так и для внешнего рынков.

Ключевые слова: молочное и мясное скотоводство, геномная оценка, инбридинг, селекционная работа

THE DIRECTIONS OF SELECTION ORGANIZATION IN THE DAIRY AND BEEF CATTLE BREEDING OF UKRAINE

S.Yu. Ruban, O.M. Fedota

Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS (Chubinskoe, Ukraine)

The main directions of selection organization in the dairy and meat cattle breeding in Ukraine on the basis of modern genetics and biotechnology were considered. System of its research and production support in the short term that takes into account the state of the country's livestock industry and expands the potential gain valuable breeding material for both internal and external markets was offered.

Key words: dairy and beef cattle breeding, genomic evaluation, inbreeding, selection

УДК 636.034

СТРАТЕГІЧНІ НАПРЯМИ РОБОТИ ЩОДО ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНОФОНДУ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН В УКРАЇНІ

**І.В. ГУЗЄВ, О.Д. БІРЮКОВА, Л.В. ВИШНЕВСЬКИЙ, Н.Л. РЕЗНІКОВА,
О.І. КОСТЕНКО**

*Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)
guzev@cdmaua.com*

Представлено сучасні стратегічні напрями щодо збереження біорізноманіття тваринного світу в Україні. Вказано на необхідність оптимізації кількості генофондових стад, основним завданням яких передбачається відтворення ремонтного поголів'я та одержання біологічного матеріалу (гамет, ембріонів, зразків ДНК). Підтримання наявного біорізноманіття на рівні міжнародних вимог є можливим за умов упровадження в практику оновленої методології управління генетичними ресурсами тварин та закладення до Національного банку генетичних ресурсів тварин відповідного біологічного матеріалу.

Ключові слова: збереження біорізноманіття, інформаційні системи, породна специфічність, локальні породи, генофондові популяції

Введення. Загальнодержавна програма селекції в тваринництві спрямована на інтенсифікацію селекційного процесу і ґрунтується на переважному вико-

© І.В. Гузєв, О.Д. Бірюкова, Л.В. Вишневський,
Н.Л. Резнікова, О.І. Костенко, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

ристанні найбільш конкурентоспроможного племінного матеріалу порід, типів, кросів сільськогосподарських тварин. За цих умов постає проблема збереження генофонду порід, популяцій сільськогосподарських тварин, які за рівнем продуктивності нездатні конкурувати з високоспеціалізованими племінними ресурсами. В першу чергу, це стосується місцевих (аборигенних) порід, що призводить до звуження природної різноманітності тварин і незворотної втрати генів, притаманних цим породам. Саме вони найчастіше вирізняються адаптованістю, мають міцну конституцію, підвищений рівень загальної резистентності, високу відтворювальну здатність і низку інших цінних якостей.

Міжурядова конференція експертів з наукових засад раціонального використання і охорони ресурсів біосфери «Наукові основи раціонального використання та збереження ресурсів біосфери» (Париж, 1968), проведена під егідою ЮНЕСКО за участю 236 делегатів із 63 країн та 88 представників міжнародних організацій, прийняла рішення про необхідність заходів щодо збереження генетичних ресурсів біосфери. Провідні організації, які опікуються цим питанням: Продовольча та сільськогосподарська організація ООН (ФАО) (англ. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO), Всесвітня організація охорони здоров'я, Міжнародна біологічна програма (МБП), Міжнародна спілка з охорони природи і природних ресурсів (МСОП). У 1992 р. в Ріо-де-Жанейро на Всесвітньому саміті 167 країн підписали Конвенцію про збереження біологічного різноманіття. В 1994 р. Верховною Радою України цю конвенцію було ратифіковано.

У Національній доповіді України про збереження біологічного різноманіття, яку було представлено на засіданні ФАО, поставлено пріоритетне завдання щодо підвищення ролі сільського господарства в підтримці біорізноманітності. Вагоме місце у вирішенні поставленого завдання щодо збереження унікального генетичного матеріалу тваринного світу надається галузі тваринництва. На вирішення питань щодо збереження генофонду тварин спрямовується програма наукових досліджень НААН «Збереження біологічного різноманіття та система роботи в малочисельних популяціях сільськогосподарських тварин та їх використання в селекційному процесі».

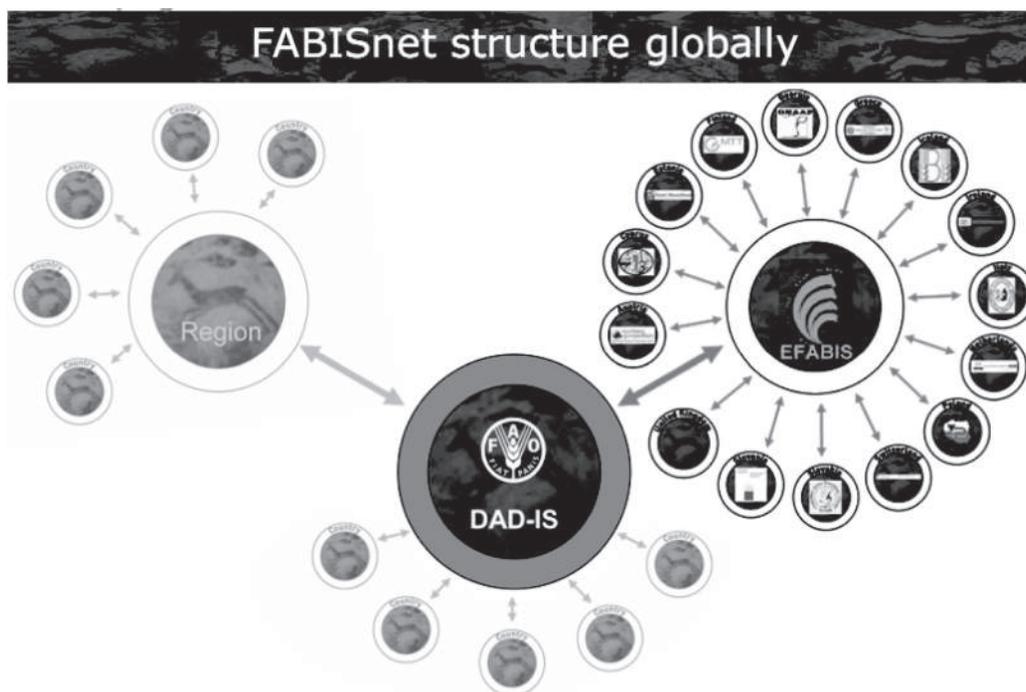
Наразі у світі функціонує низка глобальних загальнодоступних гармонізованих електронних інформаційних систем з генетичного різноманіття тварин, які оперують даними з різних країн.

Однією з перших у 1995 р. Відділом науки про тварин Державного університету Оклахоми (США) було створено Інформаційну систему порід домашньої худоби – ІСПДХ [1], яка надає стисло інформацію про походження, розповсюдження понад 1100 порід (представників близько 20 видів), про їхні типові характеристики, використання і статус популяцій, разом із фотозображеннями і ключовими посиланнями на основну бібліографічну інформацію по породі [2].

Інформаційна система генетичних ресурсів domestikованих тварин – DAGRIS (Domestic Animal Genetic Resources Information System) [3], початок

створення якої Міжнародним інститутом тваринництва – ILRI (International Livestock Research Institute) датується 1999 р., є досить потужною базою даних, яка об'єднує дослідницьку інформацію з різноманітних джерел літератури про ознаки понад 600 порід різних видів сільськогосподарських тварин країн Африки і Азії та продовжує розвиватися в напрямку розробки зв'язків із геоінформаційною системою GIS [4, 5].

Найбільш потужними із відомих глобальних і регіональних інформаційних систем є DAD-IS та EFABIS, створені за дорученням ФАО. DAD-IS (Domestic Animal Diversity Information System) – система світового масштабу, що функціонує вже майже чверть століття для реалізації стратегій раціонального управління генетичними ресурсами тварин (<http://www.fao.org/dad-is>). DAD-IS є центром глобальної мережі самостійних інформаційних систем (див. рисунок).



Структура глобальної мережі DAD-IS

DAD-IS – це мережа зв'язків регіональних інформаційних систем і/або національних інформаційних систем в окремих країнах. Дана мережа інформаційних систем відноситься до окремих країн як до найменших одиниць та підтримує агрегацію на регіональному і всесвітньому рівнях. Глобальна інформаційна система необхідна для впровадження в життя Глобального плану дій (ГПД) щодо генетичних ресурсів тварин (ГРТ), який був прийнятий делегатами 109 країн у 2007 р. на Інтерлакенській конференції з питань генетичних ресурсів тварин для забезпечення збереження та раціонального використання генетичних ресурсів, налагодження зв'язків національними та регіональними координаторами, групою із ФАО, яка опікується ГРТ через національні та регіональні інформаційні системи (ІС); звітності країнам-учасникам та Комісії

з генетичних ресурсів тварин щодо стану ГРТ; розповсюдження інформації; роз'яснення та гармонізації термінології; доступу до інформації про породи тварин в усьому світі (понад 14000 популяцій порід, які представляють 37 видів з 181 країни) з широким спектром характеристик [6].

Нині інформаційні ресурси лише полегшують пошук країни або породи. В ідеалі вони повинні вмішувати всю наявну дослідницьку інформацію і давати можливість користувачам приймати обґрунтовані рішення про значущість кожного елемента інформації. Масштаб збору даних також необхідно поширити настільки, щоб інформацію про породу можна було б пов'язати з географічною інформаційною системою з картування оточуючого середовища і систем виробництва, що дасть змогу передбачати характеристики породи, які погано документуються [2, 7].

Можливість взаємозв'язку і сумісності інформаційних систем з'явилася завдяки створенню регіональної мережі EFABIS (European Farm Animal Biodiversity Information System) в 2006 р. [8].

Web-інтерфейс інформаційних систем може бути адаптованим до національних особливостей. Усі дані також можуть бути перекладені на національну мову. Проте кожній країні необхідно подавати дані протокольною мовою (одна з офіційних мов для поєднання з вищим рівнем ІС) за допомогою відповідних інструментів. Національні дані, надані будь-якою протокольною мовою, будуть автоматично завантажені на більш високих рівнях, тим самим поширюючи наявну інформацію у всьому світі для підтвердження поданої в національних доповідях ФАО. Країни можуть прийняти рішення щодо збору даних про види тварин, які використовуються в харчовій промисловості та сільському господарстві країни, але не введені до більш високих рівнів мережі.

Установка відповідного, так званого GNU Public License (GPL) програмного забезпечення може бути здійснена без будь-яких додаткових затрат на нього, що дає можливість кожній країні створювати національні веб-інформаційні системи генетичних ресурсів тварин, які використовуються для виробництва продуктів харчування і сільського господарства. Оскільки дана система має відкритий первинний код, вона може бути адаптована до специфічних потреб різних країн [6].

Національні інформаційні бази даних про різноманіття домашніх тварин дають уявлення про поточний стан породи, включаючи чисельність, поширення, статус і практичне значення ГРТ. Вони дають можливість доступу до інформації про запланований і поточний менеджмент породи. Обов'язковою умовою є висвітлення популяційної динаміки породи.

Вочевидь, при створенні вітчизняної інформаційної системи доцільно було б орієнтуватися на прийняті міжнародною спільнотою [9, 10, 2, 11–13, 6] та апробовані впродовж десятиріч уніфіковані вимоги до необхідного набору відповідних оціночних параметрів тварин різних видів (таблиця).

**Уніфікована структура інформаційної бази даних різноманіття
свійських тварин**

Інформаційний блок	Зміст
1	2
Назва породи (внутрішньопородного типу)	(Кирилицею та латиницею із зазначенням мови) <ul style="list-style-type: none"> • Найбільш вживана назва • Пояснення назви • Місцева назва породи
Кольорове фото	Світлина, зображення із підписом, який ідентифікує тварину, місце її перебування і фотографування та автора фото
Походження і розповсюдження	Опис походження (методи, рік затвердження та заснування племінної книги або звідки і коли відбувалося імпортування тварин породи) Поширення в межах країни (регіони, області)
Використання	Перерахувати напрями продуктивності та можливе використання, включаючи специфічне
Своєрідність породи	Особливості продукції, резистентності або стійкості проти захворювань тварин породи; адаптація до специфічних умов навколишнього середовища; інші специфічні особливості; адаптація до екстремальних умов навколишнього середовища; типовий продукт, який виробляється з продукції породи; вплив на культуру; вплив на навколишнє середовище; джерело свідчення про специфічні якості
Масть породи	Основний колір; колір шкіри; коментарі щодо кольору
Морфологічні особливості породи	Якісні показники тварин по породі, включаючи середню висоту в крижах самців та самок; середню масу самців та самок; інші специфічні фенотипічні показники; дані про наявність, кількість і форму рогів; генетичні особливості; джерело інформації про породу
Продуктивні та репродуктивні ознаки тварин	Надій за лактацію (кг); тривалість лактації (дні); молочний жир (%); молочний білок (%); добовий надій; номер лактації; число лактацій; середньодобові прирости самців та самок; тривалість продуктивного використання, роки; маса туші самців і самок; забійний вихід, %; багатоплідність (min, середня, max); інтервал між пологамі (дні; середній, мінімум та максимум); вік при перших пологах (місяці;

1	2
	середній, мінімум та максимум); вік осіменіння самцями та самок; маса при народженні самців та самок; вік досягнення статевої зрілості самців та самок; система утримання; система годівлі дорослих тварин; період перебування в стійлах; умови, за яких було виміряно продуктивність; коментарі щодо умов утримання; додаткові параметри продуктивності
Додаткова інформація	Уточнювальна інформація (якщо є потреба)
Популяційні дані	Динаміка поголів'я, кількості та розміру стад
Програми збереження (селекції) <i>in vivo</i> (породних популяцій)	Початок (рік); закінчення (рік); кількість стад, охоплених програмою; кількість самців, включених до програми; кількість самок, охоплених програмою; розміщення стад, охоплених програмою; джерело фінансування; організація, яка займається моніторингом породи
Програми кріозбереження генетичного матеріалу (методом <i>ex situ</i>)	Початок (рік); закінчення (рік); кількість ембріонів або доз сперми, що зберігається; кількість представлених плідників; кількість самок, від яких наявний матеріал; тип генетичного матеріалу на збереженні; організація, де зберігається генетичний матеріал і яка здійснює програму; джерело фінансування
Вовнова продуктивність	Тип вовни; настриг вовни; діаметр волокна (тонина вовни)
Яєчна продуктивність	Несучість (мінімум, середня, максимум); маса яйця (мінімум, середня, максимум); забарвлення шкаралупи яєць
Фенотипічні якісні характеристики	Забарвлення шкіри; забарвлення пера; забарвлення гомілки і стопи; тип гребеня

Робота над створенням вітчизняної національної інформаційної системи збігається в часі з початком відновлення вітчизняної автоматизованої системи управління селекційним процесом в основних галузях тваринництва. На даний момент стало очевидно, що без створення централізованих інформаційних систем у галузевих селекційних центрах в сучасних умовах абсолютно неможливо досягнути ефективного управління генетичними ресурсами тварин. Існує перспективна можливість розв'язання даної проблеми через спільне використання глобальної інформаційної системи DAD-IS [6] та регіональної EFABIS [8].

Виходячи з міжнародної практики і вимог міжнародних організацій, інформаційне забезпечення програми збереження біорізноманіття в тваринництві України потребує, перш за все, об'єктивного всебічного дослідження специфіки племінних ресурсів. Оцінку специфіки генофондового матеріалу доцільно розпочинати саме з аналізу наявної інформації як на популяційному, так і на індивідуальному рівнях. Тому головне завдання полягає в одержанні об'єктивної інформації щодо підконтрольних популяцій тварин і створення бази даних для аналізу їхньої структури, дослідження генетичних процесів, вирішення комплексу питань у системі збереження генетичних ресурсів. У міжнародній практиці саме підтвердження генетичної унікальності та консолідованості породи є основою для її включення до національних програм збереження біоресурсів [14–16].

Характеристика біологічного матеріалу, що призначається для зберігання, здійснюється за результатами аналізу зоотехнічної та ветеринарної інформації. Основні його складові: генетична експертиза походження, цитогенетичний контроль, тестування за генами кількісних та якісних ознак і аномалій, оцінка адаптаційного потенціалу, рівня відтворної здатності та ін. [17–21].

Основні принципи генетичного моніторингу в системі оцінки біорізноманіття тварин ґрунтуються на поєднанні результатів аналізу зоотехнічної та ветеринарної інформації (аналіз родоводів, популяційні параметри, тестування на стресостійкість і резистентність та ін.) з результатами генетичних досліджень. Ці дослідження спрямовуються на визначення адаптаційного потенціалу порід, типів і окремих популяцій сільськогосподарських тварин за результатами оцінки резистентності, конституціональних особливостей тварин тощо. Такий комплексний аналіз дає можливість виявити адаптивний і продуктивний потенціал породи та провести стратифікацію генофондової продукції.

Отже, генетичний моніторинг виступає складовою програми збереження і раціонального використання генофонду сільськогосподарських тварин. Ця програма спрямована на реалізацію основних положень Конвенції про біологічну різноманітність, яку було ратифіковано Верховною Радою України 27 листопада 1994 р. Одне з пріоритетних завдань, що впливає з цієї конвенції, це розробка національної стратегії збереження біорізноманіття [22–24].

Стосовно до тваринного світу, комісією ФАО з генетичних ресурсів у сфері продовольства і сільського господарства (Рим, 2010) визначено, що управління генетичним різноманіттям тварин є необхідною умовою для глобальної продовольчої безпеки, сталого розвитку та забезпечення існування людства. Під контролем глобального банку ФАО з генетичних ресурсів тварин (ГРТ) перебуває 7616 порід різних видів сільськогосподарських тварин, з яких 20% класифікуються як такі, що знаходяться в зоні ризику зникнення. Всього ж за останні шість років безповоротно зникло 62 породи домашніх тварин.

В Україні зникло 16 вітчизняних порід і порідних груп (14,3% світового списку) п'яти видів сільськогосподарських тварин, винятково з класу ссавців, а саме: чотири породи коней – германо-бессарабська, ногайська, стрілецька,

тарпан; чотири породи свиней — дніпровська, крелевецька, подільська, українська локальна популяція європейської коротковухої свині; три породи великої рогатої худоби — чорно-ряба подільська, гуцульська, українська білоспинна; три породи овець — чунтук, мазаєвський меринос, решетилівська; дві породи кіз — асканійська мохерова і кримська. У племінному тваринництві лише 118 (19,8%) породних популяцій перебувають поза зоною ризику суттєвого зменшення поголів'я.

За ініціативою академіка В.П. Бурката в Інституті розведення і генетики тварин НААН створено та постійно поповнюється Банк генетичних ресурсів тварин, який нараховує наразі 125554 спермодози від 207 плідників 27 порід великої рогатої худоби, 50 спермодоз від 6 жеребців 3 порід, 1200 еякульованих спермодоз від 4 кнурів 2 порід та 4510 епідидимальних спермодоз 27 кнурів 5 порід, 25 спермодоз баранів гірськокарпатської породи, 250 спермодоз лускатого коропа, 220 епідидимальних спермодоз цапів 2 порід, 136 ембріонів симентальської породи, 50 — чорно-рябої, 25 — червоно-рябої голштинської та 64 — англєрської порід великої рогатої худоби. Серед інститутів, що є співвиконавцями програми наукових досліджень «Збереження генофонду сільськогосподарських тварин», кріобанки функціонують в Інституті тваринництва НААН, Інституті свинарства і агропромислового виробництва НААН та Інституті рибного господарства НААН. Кріобанк Інституту тваринництва налічує 10041 спермодозу від 9 бугаїв 4 порід великої рогатої худоби, 245 спермодоз від 5 баранів 2 порід, 40 ембріонів великої рогатої худоби та 6 ембріонів сокільської породи овець. В Інституті свинарства і агропромислового виробництва створено Банк ДНК, в який закладено ДНК 28 кнурів та 90 свиноматок миргородської породи.

Науковцями обґрунтовано та застосовуються на практиці наступні підходи: сучасна методологія збереження біорізноманіття генетичних ресурсів тваринництва України; комплекс біотехнологічних методів з метою використання або зберігання біологічних об'єктів *ex situ*, *in vitro*; система підбору плідників у мікропопуляціях з обмеженою чисельністю тварин; молекулярно-генетичний моніторинг стану вітчизняних генетичних ресурсів. Крім того, проводиться оновлення Європейської інформаційної системи біорізноманіття сільськогосподарських тварин (EFABIS) за видами та породами, які розводять в Україні.

Для упорядкування роботи щодо збереження генетичних ресурсів розроблено проект положення «Про збереження генофонду локальних та зникаючих порід сільськогосподарських тварин України», обґрунтовано механізми та обсяги фінансової підтримки за рахунок коштів програми «Селекція» на утримання генофондових об'єктів та видів робіт загальнодержавного значення.

З метою координації заходів зі збереження генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин в Україні необхідне створення Національного центру генетичних ресурсів тварин, що є обов'язковим для кожної країни згідно з Глобальним планом дій та Інтерлакенською декларацією.

Подяка. Автори висловлюють подяку науковим установам, що сприяють розвитку напряму збереження генофонду сільськогосподарських тварин в Україні. Це, зокрема, Інститут тваринництва НААН, Інститут тваринництва степових районів імені М.Ф. Іванова «Асканія-Нова» – Національний науковий селекційно-генетичний центр з вівчарства, Інститут рибного господарства НААН, Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН, ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (відділ шовківництва) та ін.

1. *Ansi.okstate.edu/breeds* [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.ansi.okstate.edu/breeds>. – Заголовок з екрана.

2. *FAO*. 2007b. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling. – Rome: FAO, 2007. – 511 p.

3. *DAGRIS Ilri.cgiar.*[Електронний ресурс]: inform. system/ International Livestock Research Institute (ILRI), 2007–2012. – Режим доступу: <http://dagris.ilri.cgiar.org/>. – Заголовок з екрана.

4. *FAO*, 2010. ВИЖ РАСХН, 2010. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства; пер. с англ. С.Н. Харитоновна, Т.Т. Глазко, О.В. Кузнецовой [и др.]. – М.; Рим: FAO, 2010. – 512 с.

5. *Delivering* systematic information on indigenous animal genetic resources – the development and prospects of DAGRIS. In Proceedings of the Deutscher Tropentag [Електронний ресурс]/ W. Ayalew [et al.] // Technological and Institutional Innovations for Sustainable Rural Development, held 8–10 October, 2003. – Göttingen, Germany, 2003. – Режим доступу: <http://www.tropentag.de/2003/abstracts/full/28.pdf>.

6. *Fao.org/dad-is* [Електронний ресурс]: Всемирная с.-х. информ. система/ Всемирный с.-х. информ. Центр FAO ООН. – Режим доступа: <http://www.fao.org/dad-is>. – Загл. с экрана.

7. *Gibson G.P.* Measures of Diversity as inputs for decisions in conservation of livestock genetic resources/ G.P. Gibson, W. Ayalew, O. Hanotte; Managing biodiversity in agroecosystems; [D.I. Jarvis, C. Padoch, D. Cooper, eds.]. – New York, USA: Columbia University Press., 2007.

8. *Efabis. tzv. fal. de* [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://efabis.tzv.fal.de/>. – Заголовок з екрана.

9. *Реєстрація ICAR*: довідник (Авторське право: 2007, ICAR); пер. з англ. / [В.І. Лади́ка, Л.М. Хмельничий, В.П. Буркат, С.Ю. Рубан]. – Суми: Вид-во Сум. нац. аграр. ун-ту, 2010. – 457 с.

10. *EAAP-AGDB*. 2005. Factors used for assessing the status of endangerment of a breed. European Association of Animal Production – Animal Genetic Data Bank. – Режим доступу: <http://www.tiho-hannover.de/einricht/zucht/eaap/>.

11. *Local cattle breeds in Europe* – Development of policies and strategies for self-sustaining breeds / [edited by S.J. Hiemstra, Y. Haas, A. Maki-Tanila et al.]. – Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2010. – 154 p.

12. *LPP, LIFE Network, IUCN-WISP and FAO*. 2010. Adding value to livestock diversity – Marketing to promote local breeds and improve livelihoods. FAO Animal Production and Health Paper. – Rome, Italy: FAO of the UN, 2010. – № 168. – 148 p.
13. *Utilization and conservation of farm animal genetic resources* / [J. K. Oldenbroek, G. Gandini, J. Woolliams et al.]; edited by J.K. Oldenbroek. – Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2007. – 232 p.
14. *FAO*. 2011. № 6. Developing the institutional framework for the management of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. – № 6. – Rome, Italy: FAO of the UN, Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, 2011. – 114 p.
15. *FAO*. 2011. № 7. Surveying and monitoring of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. – № 7. – Rome, Italy: FAO of the UN, Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, 2011. – 146 p.
16. *FAO*. 2011. № 9. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. – № 9. – Rome, Italy: FAO of the UN, Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, 2011. – 87 p.
17. *Ефименко М.Я.* Роль генетических маркеров в системе геномной селекции / М.Я. Ефименко, Б.Е. Подоба, О.Д. Бирюкова // Достижения в генетике, селекции и воспроизводстве сельскохозяйственных животных. – С.-Петербург. – 2009. – Ч. 2. – С. 78–83.
18. *Імуногенетичний моніторинг у селекційних процесах створення та вдосконалення порід сільськогосподарських тварин* / [Б.Є. Подоба, І.С. Бородай, С.В. Овчарук, М.В. Гопка] // Розведення і генетика тварин. – 2007. – Вип. 41. – С.171–180.
19. *Методологічні аспекти збереження генофонду сільськогосподарських тварин* / [М.В. Зубець, В.П. Буркат, Ю.Ф. Мельник та ін.]. – К.: Аграр. наука, 2007. – 120 с.
20. *Столповский Ю.А.* Концепция и принципы генетического мониторинга для сохранения *in situ* пород доместифицированных животных // С.-х. биология. – 2010. – 36. – С. 3–8.
21. *Програма збереження генофонду основних видів сільськогосподарських тварин в Україні на період до 2015 року* / [Ю.Ф. Мельник, Д.М. Микитюк, О.В. Білоус та ін.]; заг. наук. ред. І.В. Гузева; консультація і специф. Ю.Ф. Мельника. – К.: Арістей, 2009. – 132 с.
22. *FAO*. 2009. № 167. Livestock keepers – guardians of biodiversity. FAO Animal Production and Health Paper. – № 167. – Rome, Italy: FAO of the UN, 2009. – 59 p.
23. *FAO*. 2010a. № 3. Breeding strategies for sustainable management of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. – № 3. – Rome, Italy: FAO of the UN, Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, 2010. – 133 p.
24. *FAO*. 2010b. Draft guidelines on phenotypic characterization / Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. Inter Governmental Technical Working Group on Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. – Sixth Session. – Rome, 24–26 November, 2010. – Rome: FAO, 2010. – 91 p.

СТРАТЕГИЧЕСКИЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАБОТЫ ПО СОХРАНЕНИЮ ГЕНОФОНДА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В УКРАИНЕ

И.В. Гузев, О.Д. Бирюкова, Л.В. Вишнеvский, Н.Л. Резникова, А.И. Костенко

Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)

Представлены современные стратегические направления сохранения биоразнообразия животного мира в Украине. Показана необходимость оптимизации численности генофондных стад, основной задачей которых предусматривается воспроизводство ремонтного поголовья, биологического материала (гамет, эмбрионов, образцов ДНК). Поддержание существующего биоразнообразия в соответствии с международными требованиями возможно при условии внедрения в практику предложенной методологии управления генетическими ресурсами и закладки в Национальный банк генетических ресурсов животных оцененного биологического материала.

Ключевые слова: сохранение биоразнообразия, информационные системы, породная специфичность, локальные породы, генофондные популяции

STRATEGIC WORK DIRECTIONS IN PRESERVATION OF GENE POOL OF AGRICULTURAL ANIMALS IN UKRAINE

I.V. Guzev, O.D. Birukova, L.V. Vishnevskiy, N.L. Reznikova, O.I. Kostenko

Institute of animals breeding and genetics NAAN (Chubinskoe, Ukraine)

Modern strategic directions in preservation of biovariety of animal kingdom in Ukraine are presented. It is indicated on the necessity of optimization of quantity gene pool herds the basic task of which is see the recreation of repair population, gametes, embryos. At the terms of introduction in practice of the renewed methodology of animal's genetic resources preservation and on condition of book-mark to National Bank of animals genetic resources of biological material, maintenance of present biovariety is possible at the level of international requirements.

Key words: preservation of biovariety, informative systems, pedigree specificity, local breeds, gene pool of populations



УДК 635.5:575.2

АНАЛІЗ РІВНЯ І СПЕКТРА ГЕНЕТИЧНОГО ВАНТАЖУ РІЗНИХ ВИДІВ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПТИЦІ

І.О. БУЛЬЧЕНКО

*Сумський національний аграрний університет (Суми, Україна)
hamfling@gmail.com*

*Наведено результати аналізу рівня і структури генетичного вантажу морфологічних аномалій курей, індиків, перепелів, качок, гусей і мулардів. Види ряду курячі (*Galliformes*), окрім індиків, вирізнялися вищим рівнем генетичного вантажу (0,79–0,90%), ніж представники гусеподібних (*Anseriformes*) (0,22–0,26%). Було виявлено лише п'ять патологій, генетична природа яких ідентифікована, і шість аномалій з маловідомим механізмом успадкування. Прояв аномалій мав певні особливості у представників кожного з досліджених рядів. Спектр патологій споріднених видів вирізнявся значною подібністю, що добре узгоджується з законом гомологічних рядів спадкової мінливості М.І. Вавилова.*

Ключові слова: генетичний вантаж, екзенцефалія, відсутність максил, вкорочений наддзьобок, перехрещений дзьоб, безкрилість, полімелія

Введення. Генофонд кожної популяції тварин має певну кількість летальних і сублетальних мутацій, які мають назву генетичний вантаж [1]. Забруднення довкілля тератогенними факторами, такими як іонізуюче випромінювання, хімічні й біологічні агенти, призводить до підвищення частоти виникнення мутацій [2]. Крім того, застосування в сучасній селекції тварин інбридингу зу-

© І.О. Бульченко, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

мовлює підвищення частоти летальних гомозигот [7]. Як показали дослідження, схожа проблема існує і в популяціях людей [10, 11].

У птахівництві летальні й сублетальні мутації спричиняють ембріональну смертність на різних етапах інкубації, а також спотворення пташенят, які вижили. Найлегше ідентифікуються мутації, які викликають морфологічні зміни в будові ембріонів. Таких аномалій у різних видів сільськогосподарських птахів зафіксовано понад сотню [14–15]. Вони знижують вихід кондиційного молодняку і призводять до значних збитків при інкубації яєць [5, 8, 12, 13]. Тому виникає необхідність моніторингу частоти і спектра ембріональних аномалій у популяціях птиці. У зв'язку з цим метою даної роботи було дослідження рівня і спектра генетичного вантажу в різних видів сільськогосподарської птиці в Україні.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проведено в 2011–2012 рр. в інкубаторно-птахівничих господарствах Сумської області – ТОВ «Сумське ІПП», ІПП «Птиця», ПП «Кривобок Р.І.», в яких вивчалися відходи інкубації і проводився огляд добового молодняку курей, індиків, качок, мулардів, гусей та перепелів. Відходи інкубації голубів, папуг, амадин і канарок вивчали на базі Сумського міського центру еколого-натуралістичної освіти учнівської молоді. Упродовж дослідження обстежено 1716 ембріонів курей, 865 – качок, 692 – гусей, 70 – мулардів, 76 – перепелів, 18 – папуг, 10 – амадин, 10 – канарок і 20 – голубів. Також проводився огляд добового молодняку. Обстежено 66702 молодняку курей, 8654 – індиків, 23479 – качок, 20050 – гусей, 1630 – перепелів. Розтин відходів інкубації здійснювали відповідно до методики А.Н. Тищенко [9]. Не вивчалися партії яєць, при інкубації яких було зафіксовано порушення, внаслідок чого знижувався вихід кондиційного молодняку. В цих партіях могли бути виявлені морфози і фенкопії, які можна прийняти за спадкові аномалії. Ідентифікацію виявлених аномалій проводили за каталогом R.G. Somes [18].

Під час проведення статистичного аналізу, перевірки розподілу кількісних даних на відповідність законам нормального розподілу у великих групах розраховували показники асиметрії і ексцесу з наступною перевіркою нульової гіпотези на рівність нулю. Аналіз норми розподілу даних проводили параметричними методами. Порівняння середніх арифметичних виконували з використанням метода Стюдента. Різницю між частотами аномалій у різних видів визначали за допомогою критерію Фішера. Для вивчення зв'язку між видами за рівнем генетичного вантажу застосовували кластерний аналіз [3]. Статистичні гіпотези перевіряли на рівні значимості $p < 0,05$, $p < 0,01$. Бази даних та розрахунки виконано в програмах LibreOffice Calc, Gnumeric і IBM SPSS Statistics.

Результати досліджень та їхнє обговорення. Як показали дослідження, рівень генетичного вантажу в популяціях сільськогосподарської птиці є видоспецифічним. Середньовидовий рівень генетичного вантажу в різних видів свійських птахів наведено в табл. 1 і рис. 1. У ряду досліджених видів папуг, амадин, канарок, голубів ембріональних аномалій не виявлено, можливо, з при-

чин невеликої вибірки обстеженого матеріалу. Цей феномен можна пояснити тим, що рівень генетичного вантажу в цих видів дуже низький.

1. Середньовидовий рівень генетичного вантажу в різних видів сільськогосподарських птахів

Вид	Кількість аномалій у досліджених відходах інкубації, %	Загальний рівень генетичного вантажу, % (загиблі ембріони + молодняк)
Ряд курячі (<i>Galliformes</i>)		
Свійська курка	4,90±0,521	0,79±0,031
Індичка домашня	1,36±0,782	0,14±0,039
Японська перепілка	5,26±2,561*	0,90±0,201*
Ряд гусеподібні (<i>Anseriformes</i>)		
Качка свійська	1,85±0,458	0,26±0,031
Гуска свійська	1,45±0,454	0,22±0,030
Мулард	12,86±4,001*	2,04±0,349*

* Рівень значущості, $p < 0,01$.

Найвищим рівнем генетичного вантажу вирізнявся міжродовий гібрид мулард, його загальний генетичний вантаж становив 2,04±0,349%. Значно менше аномалій виявлено у інших видів, таких як кури і перепели. Кількість аномалій у досліджених відходах інкубації для них сягала 4,90±0,521% і 5,26±2,561%, для муларда – 12,86±4,001% ($p < 0,01$).

У перепелів загальний рівень генетичного вантажу – 0,90±0,201%. Цей високий показник у дослідженій вибірці перепелів можна пояснити тим, що в господарстві, де проводилося дослідження (ПП «Кривобок Р.І.»), птиця тривалий час розводилася «в собі» і рівень інбридингу в ній досить високий. Наші дані підтверджують, що перепели дуже чутливі до інбредної депресії [14, 15, 17].

У курей загальний рівень генетичного вантажу вроджених аномалій становив 0,79±0,031%. Загалом рівень генетичного вантажу в різних порід курей коливався в досить широких межах (від 0,38±0,130 до 1,40±0,092%) і залежав від напрямку продуктивності породи.

Качки і гуси вирізнялися досить невисоким рівнем генетичного вантажу. Для качок ця величина дорівнювала 0,26±0,031%, для гусей – 0,22±0,030%. Ці показники нижчі, ніж у курей і перепелів.

Найменший рівень генетичного вантажу зафіксовано в індиків – 0,14±0,039%. Його рівень нижчий, навіть ніж у водоплавних птахів.

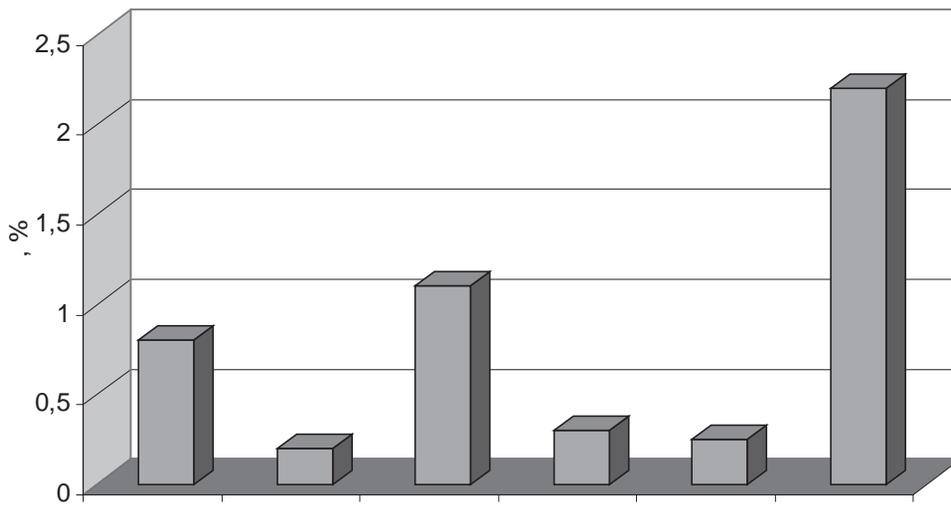


Рис. 1. Частота появи аномалій у різних видів сільськогосподарської птиці серед загиблих ембріонів і добового молодняку

На основі показників рівня розповсюдження генетичних аномалій побудовано дендрограму (рис. 2) з використанням методу міжгрупових зв'язків.

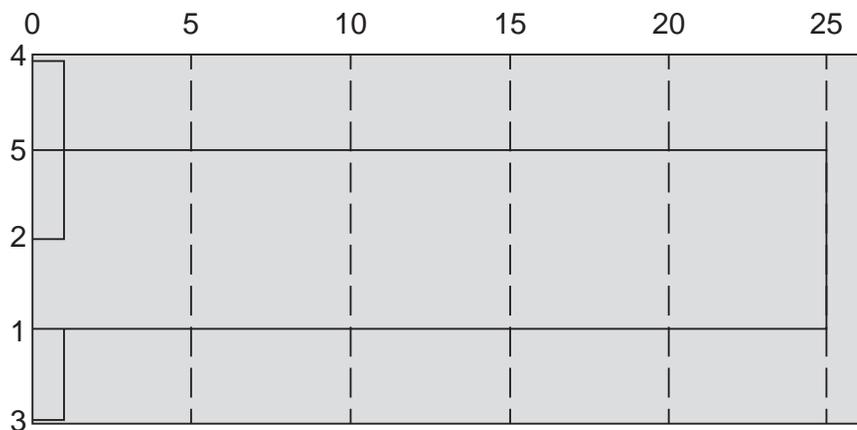


Рис. 2. Дендрограма на основі загального рівня генетичного вантажу в різних видів досліджених птахів

Структура дендрограми демонструє, що вся дослідна птиця за розміром генетичного вантажу утворює два кластери: в один входять кури і перепели, в інший – качки, гуси та індики.

Ці дані підтверджують, що неводоплавна сільськогосподарська птиця характеризується вищим рівнем генетичного вантажу, ніж водоплавна.

Під час вивчення спектра спадкових летальних і сублетальних аномалій ембріонального розвитку птиці було виявлено, що спектри вад ембріонального розвитку всіх досліджених видів сільськогосподарської птиці досить подібні

(табл. 2). Оскільки R.G. Somes ідентифікує виявлені аномалії як фенотипічний прояв мутації, ми будемо притримуватися його номенклатури. За його даними, більшість виявлених нами аномалій, окрім бікраній і полімелій, носять ауто-сомно-рецесивний характер успадкування. Прояв кожної з аномалій буде описано для видів, у яких її виявлено.

2. Порівняння спектра летальних і сублетальних аномалій різних видів сільськогосподарської птиці

Вид	Екзенцефалія	Відсутність максил	Вкорочений наддзьобок	Перехрещений дзьоб	Вкорочений дзьоб	Безкрилість	Відкриті ніздрі	Бульдоподібна голова	Бікранія	Пігомелія	Торакомелія	Нотомелія
Свійська курка	+	+	+	+		+			+	+	+	+
Індичка домашня	+		+									
Японська перепілка	+	+	+	+						+	+	
Качка свійська	+	+	+	+	+		+		+	+	+	
Гуска свійська	+	+					+	+				
Мулард	+	+							+		+	

Примітка. Знаком «+» відмічено виявлено у конкретного виду аномалії.

З наведених даних видно, що екзенцефалія характерна для всіх досліджених видів птиці. На рис. 3 наведено випадки екзенцефалії у всіх досліджених видів. У одного виду і однієї породи (кросу) зустрічалися ембріони з різним ступенем прояву цієї аномалії: від незначного отвору в черепі до майже повної відсутності кісток кришки черепа. Крім того, головний мозок одних ембріонів мав нормальну форму, а у інших випинав і був сильно деформований. На нашу думку, такий прояв аномалії є результатом дії генів-модифікаторів [6, 15]. Але у видів, які належать до одного ряду, прояв цієї мутації більш схожий, ніж у віддалених форм.

Аномалія «укорочені максилі» зустрічалася у відходах інкубації всіх досліджених видів птиці, окрім індиків (рис. 4). У перепелів і гусей її виявлено у складі синдрому разом з екзенцефалією і полімелією. Прояв цієї мутації був досить консервативним у всіх видів досліджених птахів.

Ембріони з укороченим наддзьобком було виявлено у відходах інкубації курей, індиків, перепелів і качок (рис. 5). Так само, як і екзенцефалія, прояв цієї аномалії навіть у задохликів однієї породи суттєво різнився, але схожість фенотипів не викликає сумнівів, що це є прояв однієї і тієї самої вади. Деякі пташенята курей та індиків, виявлені нами з цією аномалією, змогли вивестись з яєць. Отже, вкорочений наддзьобок має фенотипічний сублетальний прояв [14].

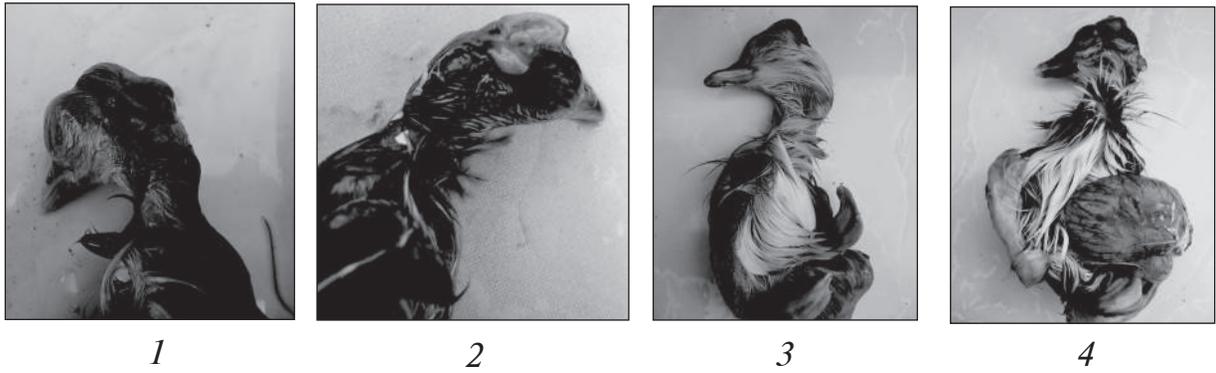


Рис. 3. Екзенцефалія у різних видів сільськогосподарської птиці:
1 – курча; 2 – перепеленя; 3 – каченя; 4 – гусеня

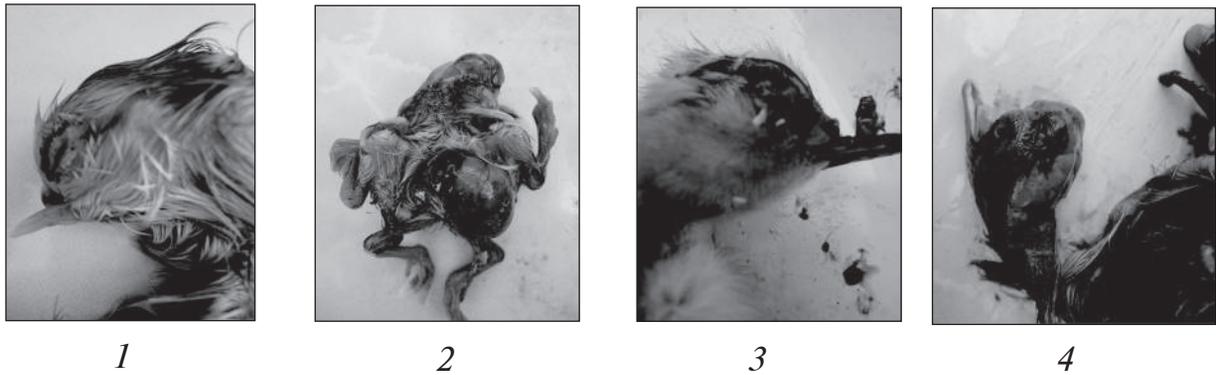


Рис. 4. Укорочення максил у різних видів свійської птиці:
1 – курча; 2 – перепеленя; 3 – каченя; 4 – гусеня

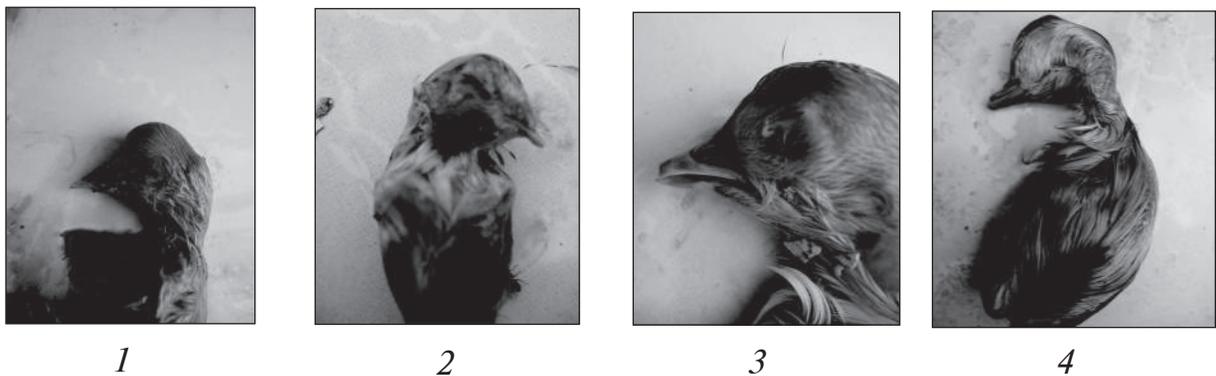


Рис. 5. Укорочений наддзьобок у досліджених видів птахів:
1 – курча; 2 – перепеленя; 3 – індиченя; 4 – каченя

Аномалія «перехрещений дзьоб» зустрічалася з різним ступенем прояву (від незначного зміщення наддзьобка в горизонтальній площині до сильного перехреста) в курей, перепелів і качок (рис. 6). У гусей та індиків її не виявлено. Особливістю прояву цієї мутації у всіх видів була відсутність одного ока з боку голови, куди був викривлений наддзьобок [11].



Рис. 6. Перехрещений дзьоб у досліджених видів птахів:
1 – курча; 2 – перепеленя; 3 – каченя

Полімелії було виявлено у курей, перепелів, качок і гусей. Додаткові кінцівки зустрічалися у пташенят на різних стадіях розвитку, і це не залежало від видової чи породної належності загиблих ембріонів. У курей було виявлено пігомелії, торакомелії. У перепелів зустрічалися випадки торакомелії. Полімелії у качок і гусей були представлені пігомелією і торакомелією.

Випадки бікранії було зафіксовано у курей і качок. Прояв цієї аномалії теж не залежав від виду чи породи птиці. На нашу думку, на формування цього фенотипу більше впливали умови інкубації.

Інші аномалії, такі як безкрилість, вкорочений дзьоб, «відкриті ніздрі» і «бульдогоподібна голова», спостерігалися лише у окремих видів птахів.

Окрім ембріонів з поодинокими аномаліями у курей, перепелів, качок і гусей, зустрічалися задохлики з ознаками двох і навіть трьох аномалій (синдроми). У курей, качок, гусей траплялися ембріони з екзенцефалією і полімелією. У перепелів і гусей було виявлено синдроми – полімелія + екзенцефалія + відсутність максил. У курей спостерігалася схожа комбінація ознак – полімелія + екзенцефалія + вкорочений наддзьобок. Інші синдроми зустрічалися лише у окремих видів.

Особливо схожі спектри виявлених аномалій у видів, які належать до одного ряду (курячі, або гусеподібні). Крім того, у споріднених видів прояв аномалій майже ідентичний. Якщо порівнювати прояв однієї аномалії у представників різних рядів, то він може дещо різнитися. Це помітно у випадку екзенцефалії і перехрещеного дзьоба.

Даний факт добре ілюструє закон гомологічних рядів спадкової мінливості М. І. Вавилова і дає можливість висунути припущення, що такі аномалії курей, як безкрилість, бікранія, пігомелія і нотомелія, можуть бути виявлені в майбутньому в індиків, перепелів і фазанів [4]. У гусей, як і у качок, за цим законом, можлива поява бікранії, а у качок – «бульдогоподібної голови».

Висновки. Види ряду курячі (*Galliformes*), окрім індиків, вирізнялися суттєво вищим рівнем генетичного вантажу (0,79–0,90%), ніж представники гусеподібних (*Anseriformes*) (0,22–0,26%).

Усі досліджені види мали помірний спектр ембріональних аномалій. Було виявлено лише п'ять видів аномалій, генетичну природу яких ідентифіковано, і шість аномалій з невідомим механізмом успадкування. Прояв аномалій мав певні особливості у представників кожного з досліджених рядів. Спектр аномалій споріднених видів характеризувався значною подібністю, що добре узгоджується із законом гомологічних рядів спадкової мінливості М.І. Вавилова.

Подяка. Автор висловлює подяку працівникам інкубаторно-птахівничих підприємств, де виконувалося дослідження, а також науковому керівнику доктору біологічних наук Бондаренку Юрію Васильовичу.

1. *Айала Ф.* Введение в популяционную и эволюционную генетику / Айала Ф. — М.: Мир, 1984. — 232 с.

2. *Ауэрбах Ш.* Проблемы мутагенеза / Ауэрбах Ш. — М.: Мир, 1978. — 464 с.

3. *Бериков В.С.* Современне тенденции в кластерном анализе / В.С. Бериков, Г.С. Лбов // Всероссийский конкурсный отбор обзорно-аналитических статей по приоритетному направлению «Информационно-телекоммуникационные системы». — 2008. — 26 с.

4. *Вавилов Н.И.* Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости / Вавилов Н.И. // Избранные произведения в 2-х томах. — Ленинград: Наука, 1967. — С. 7 — 61.

5. *Дядичкина Л.* Эмбриональная смертность птицы / Дядичкина Л. // Птицеводство. — № 4, 2007. — С. 8–9.

6. *Коган З.М.* Признаки экстерьера и интерьера у кур (генетика и хозяйственное значение) / Коган З.М. — Новосибирск: Наука, 1979. — С. 295.

7. *Кордюм В.А.* Мутации — что это? *Biopolimer and cell* / Кордюм В.А. — Т. 23. — № 3. — 2007. — С. 215–242.

8. *Остапенко В.І.* Генетичний тягар в популяціях курей різного напрямку продуктивності / Остапенко В.І. // Наук. вісн. «Асканія-Нова». — 2011. — Вип. 4. — С. 239–243.

9. *Тишенков А.Н.* Методические рекомендации для зоотехнических лабораторий птицеводческих предприятий / Тишенков А.Н.; ВНИТИП. — Загорск, 1982. — С. 104.

10. *Федота А.М.* Исследование уровня генетической безопасности городского населения / А.М. Федота, А.Н. Козлов // Цитология и генетика. — 2005. — Т. 39, № 4. — С. 41–44.

11. *Федота А.М.* Генодерматози в исследовании проблем генетической безопасности человека: автореф. дис. на соискание науч. степени д-ра биол. наук: 03.00.15 / Федота А.М.; Национальный центр радиационной медицины НАМН Украины. — К., 2012. — 43 с.

12. *Хвостик В.П.* Моніторинг генетичного тягаря у популяціях курей і гусей / Хвостик В.П. // Вісник Центру наукового забезпечення АПВ Харківської області. — Харків, 2011. — Вип. 10. — С. 318–327.

13. *Homological variation of embryonic abnormalities in poultry* / [Yu.V. Bondarenko et al.] // XXth World's Poultry Cong.: Proc. Abstracts Students' Papers Contributed. — New Delhi, 1996. — Vol. IV. — P. 94.

14. *Genetic loads in wild and domestic Japanese quail*. Annual report of the National Institute of Genetics / T. Kawahara. – N 26, 1975. – P. 76–77.
15. *Sittmann K. Inbreeding Depression in Japanese Quail*. Genetics / K. Sittmann, H. Abplanalp, R.A. Fraser. – 1966, August. – 54(2). – 371–379.
16. *Somes R.G. Alphabetical list of genes of domestic fowl* / Somes R.G. // Journal of Heredity. – 1980. – 71. – P. 168–174.
17. *Somes R.G. Lethal mutant traits in chickens* / Somes R.G. // Poultry Breeding and Genetics. – Amsterdam: Elsevier Sc. Publishers B. V., 1990. – Ch. 11. – P. 293–316.
18. *Somes R.G. (Jr.). International Registry of Poultry Genetic Stocks* / Somes R.G. // Bull. Storrs Agr. Exp. Sta. – Storrs: Univ. Connecticut Publ., 1988. – N 476. – 98 p.

АНАЛИЗ УРОВНЯ И СПЕКТРА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ГРУЗА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ

И.А. Бульченко

Сумской национальный аграрный университет (Сумы, Украина)

Приведены результаты анализа уровня и структуры генетического груза кур, индеек, перепелов, уток, гусей и мулардов. Виды ряда куриные (Galliformes), кроме индеек, характеризовались более высоким уровнем генетического груза (0,79–0,90%), чем представители гусеобразных (Anseriformes)(0,22–0,26%). Все исследованные виды не отличались значительным спектром аномалий. Было обнаружено лишь пять патологий, генетическая природа которых идентифицирована, и шесть аномалий с неизвестным механизмом наследования. Проявление аномалии имело определенные особенности у представителей каждого из исследованных рядов. Спектр патологий родственных видов отличался значительным сходством, что хорошо согласуется с законом гомологических рядов наследственной изменчивости Н.И. Вавилова.

Ключевые слова: генетический груз, экзенцефалия, отсутствие максилл, укороченное надклювье, перекрещенный клюв, безкрылость, полимелия

ANALYSIS OF LEVELS AND SPECTRUMS OF GENETIC LOAD OF DIFFERENT FOWL SPECIES

I.A. Bulchenko

Sumy national agrarian university (Sumy, Ukraine)

There is result of analysis of the level and structure of the genetic load of chickens, turkeys, quail, ducks, geese and mulard in the article. Several kinds of chicken (Galliformes), except turkey, had higher genetic load (0,79–0,90%) than the representatives of waterfowl (Anseriformes) (0,22–0,26%). All of the studied species did not differ significantly spectrum of anomalies. It was found only five pathologies, the genetic nature of which has been identified, and 6 - anomalies with little-known mechanism of inheritance. The manifestation of anomalies had certain features of representatives of each of the studied series. The spectrum of pathologies related species differed significantly similarity, which is consistent with the law of homologous series of genetic variability N.I. Vavilov.

Key words: genetic load, exencephaly, missing maxil, short mandible, cross beak, limbless, polimeliya

УДК 619:616.98:577.2

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЗБУДНИКА ВІРУСНОЇ ДІАРЕЇ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ В ГОСПОДАРСТВАХ ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

А.П. ГЕРІЛОВИЧ, І.В. ГОРАЙЧУК, В.І. БОЛОТІН, О.С. СОЛОДЯНКІН

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини» (Харків, Україна)
goraichuk@ukr.net*

Вірусна діарея великої рогатої худоби (ВД ВРХ) – це поширене контагіозне захворювання, збудник якого належить до роду Pestivirus родини Flaviviridae. Вірус зберігається в популяції великої рогатої худоби завдяки унікальному поєднанню таких властивостей, як передача збудника та його персистенція в сприятливому організмі. Персистентно інфіковані тварини можуть уражатися хворобою слизових оболонок, яка характеризується ураженнями шлунково-кишкового тракту та часто призводить до раптової смерті у всіх вікових групах. Дане дослідження було зосереджене на ідентифікації персистентно інфікованих тварин у господарствах Харківської області, в ході якого було відібрано та досліджено 1080 зразків сироватки крові від тварин із трьох господарств Харківської області. Дослідження були спрямовані на визначення присутності специфічних антитіл до вірусу діареї за допомогою імуноферментного аналізу та генетичного матеріалу збудника за допомогою ПЛР у режимі реального часу. В цьому дослідженні було виявлено 5 персистентно інфікованих тварин у двох господарствах. За допомогою подальшого філогенетичного аналізу 5'-UTR (ділянка 245 п.н.) було проведено генотипування виявлених ізолятів, яке показало належність усіх 4 вірусів з другого господарства до підтипу 1b та 1 виявленого збудника в третьому господарстві до підтипу 1f.

Ключові слова: вірусна діарея великої рогатої худоби, ПЛР в реальному часі, ІФА, генотипування, філогенетичний аналіз

© А.П. Герілович, І.В. Горайчук, В.І. Болотін, О.С. Солодянкін, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

Введення. Вірус діареї великої рогатої худоби (ВД ВРХ) належить до роду *Pestivirus* родини *Flaviviridae* [1]. Збудник представлений двома генотипами – I та II, що позначаються як BVDV-1 і BVDV-2. Представниками даного роду також є збудники класичної чуми свиней та прикордонної хвороби овець. Всі пестивіруси гомологічні за генетичною та антигенною структурою [2]. Збудники ВД ВРХ I є дуже гетерогенними, серед них розрізняють щонайменше 13 підтипів, тоді як серед більш гомогенних збудників ВД ВРХ II – лише 2 підтипи [3].

Збудник ВД ВРХ зустрічається в популяціях худоби по всьому світу [4]. Його успішне розповсюдження стало можливим, в першу чергу, завдяки спроможності вірусу спричиняти персистентні інфекції. Персистенція вірусу встановлюється на ранніх строках вагітності та пов'язана з імунотолерантністю до зараження. На відміну від персистентної інфекції, спричиненої герпес- та лентивірусами, персистентно інфіковані (ПІ) тварини залишаються вільними від антитіл до збудника ВД ВРХ [5]. Тому єдиним методом визначення персистентної інфекції в поголів'ї є детекція вірусних антигенів або їх РНК. Хоча тимчасово заражені тварини також є здатними до передачі збудника, тільки завдяки ПІ тваринам в поголів'ї зберігається персистенція вірусу. Як правило, коли захворювання набуває стаціонарного характеру, серед поголів'я великої рогатої худоби виявляється близько 1% ПІ та 60% серопозитивних тварин [6, 7]. Телята, народжені від серопозитивних корів, одержують разом з молозивом антитіла до ВД ВРХ [8]. Титр цих антитіл з часом знижується, і телята стають сприйнятливими до інфекції. Частіше саме старі тварини стають серопозитивними внаслідок тривалого проміжку часу, протягом якого вони утримувались в безпосередній близькості до ПІ тварин.

ВД ВРХ призводить до значних економічних збитків [9]. Тоді як використання живих вакцин може спричинити ембріональне інфікування та навіть розвиток хвороби слизових оболонок [10], використання інактивованих вакцин є безпечним, проте не дає достатнього захисту, особливо від внутрішньоутробного зараження [11]. Деякі країни Європейського Союзу розробляють і впроваджують програми контролю та знищення (ерадикації) ВД ВРХ, першим кроком яких є виявлення та вилучення зі стада ПІ тварин. Однак при виборі ефективного методу виявлення збудника ВД ВРХ треба враховувати антигенну та генетичну варіабельність вірусу, зміну вірусного навантаження, а також вплив материнських антитіл. У країнах, де серопревалентність є низькою, ПІ тварини можуть бути виявлені шляхом визначення імунітету поголів'я до збудника ВД ВРХ. Висока серопревалентність свідчить про присутність ПІ тварин у стаді, котрі можуть бути ідентифіковані за допомогою виявлення вірусу.

Нині в Україні поголів'я великої рогатої худоби становить близько 4,5 млн [12]. Ці тварини утримуються в 4350 господарствах, з яких 10–20% налічують понад 900 гол., а найбільше – 7000. Також існує чимала кількість невеликих приватних господарств, кількість яких не визначено. Близько 60% господарств становлять молочні ферми, 30% – змішані (молочні та м'ясні), решта – м'ясні. Наразі немає ні систематичного визначення наявності збудника ВД

ВРХ у поголів'ях, ні програм його контролю. Широкого використання набули інактивовані та ослаблені вакцини, проте ступінь їхнього використання та ефективність – невідомі.

Це дослідження було зосереджене на ідентифікації ПП тварин серед поголів'я досліджуваних господарств завдяки виявленню специфічних антитіл до збудника ВД ВРХ за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) та детекції вірусної РНК з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі з подальшим генотипуванням виявлених ізолятів.

Матеріал та методи досліджень. *Сироватка крові.* Для проведення досліджень нами було відібрано 1080 зразків сироватки крові великої рогатої худоби з трьох господарств Харківської області. В усіх господарствах зразки відбирали від тварин різних вікових груп, враховуючи їхнє співвідношення у стаді. Загальна кількість тварин становила 815 гол. у першому господарстві, 900 і 5431 – у другому та третьому відповідно. Після відбору зразки зберігали при температурі 4°C до початку досліджень, а потім – при мінус 70°C для тривалого зберігання.

ІФА. Виявлення антитіл до вірусу діареї великої рогатої худоби здійснювали методом ІФА за допомогою комерційного набору BVDV Antibody Test Kit (HerdCheck, IDEXX, Швейцарія), в якому на поверхню лунок мікротитрувальних плашок вже було нанесено антигени збудника ВД ВРХ. При проведенні ІФА до кожної лунки полістеролового планшета вносили 100 мкл розчинника та 25 мкл проби. Оптичну густину зразків визначали на фотометрі iMark (Bio-Rad, США) при довжині хвилі 450 нм. Наявність чи відсутність антитіл до вірусу у досліджуваних зразках оцінювали за значенням коефіцієнта оптичного поглинання S/P наступним чином:

$$S/P = \frac{SampleA_{450} - NC\bar{x}A_{450}}{PC\bar{x}A_{450} - NC\bar{x}A_{450}},$$

де $NC\bar{x}$ – is negative control; $PC\bar{x}$ – is positive control; NCx – негативний контроль; PCx – позитивний контроль.

Позитивними вважали зразки, коефіцієнт оптичного поглинання S/P яких був більше 0,30. Негативними вважали зразки з коефіцієнтом оптичного поглинання нижче 0,20.

ПЛР в реальному часі. Вірусну РНК виділяли з сироватки крові з використанням комерційного набору QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Німеччина) відповідно до рекомендацій виробника з наступними доповненнями. Зразки сироватки крові об'єднували по 5 до одного пулу загальним об'ємом 140 мкл. РНК елюювали в 60 мкл розчину для зберігання. ПЛР в реальному часі проводили за допомогою комерційного набору *cador* BVDV RT-PCR Kit (QIAGEN, Німеччина). Об'єм реакційної суміші становив 50 мкл, з них 20 мкл розчину РНК та 30 мкл суміші Мастер Мікс. Ампліфікація проводилася в термоциклері ABI Prism 7700 Sequence Detection System за програмою: 1 × 30 хв 50°C, 1 × 10 хв 95°C та 45 × 30 с 95°C; 1 хв 55°C.

Філогенетичне дослідження. Зразки, позитивні в ПЛР щодо наявності генетичного матеріалу збудника ВД ВРХ, далі досліджували методом секвенування. Філогенетичний аналіз ділянки гена 5'-UTR розміром 245 п.н. був використаний для генотипування підтипів ізолятів вірусу діареї. Філогенетичне дерево було сконструйоване з використанням алгоритмів найближчих сусідів та максимального приближення. Відстань між парами визначалися за алгоритмом Мураками. Усі філогенетичні дерева було сконструйовано та проаналізовано в програмі MEGA 5 software.

Статистичні методи. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми NCSS 07.1.21 statistical software (NCSS, LLC, США).

Результати досліджень та їхнє обговорення. На першому етапі проведених досліджень за допомогою ІФА було виявлено наявність антитіл до збудника ВД ВРХ у 713 з 1059 зразків (67,3%). Такі показники було встановлено в багатьох господарствах по всьому світу. Проте кількість позитивних зразків у господарствах була різною. Так у першому господарстві було виявлено 57 позитивних зразків сироватки крові з 283 (20,1%), у другому — 400 з 475 (84,2%) та в третьому — 256 з 301 (85%).

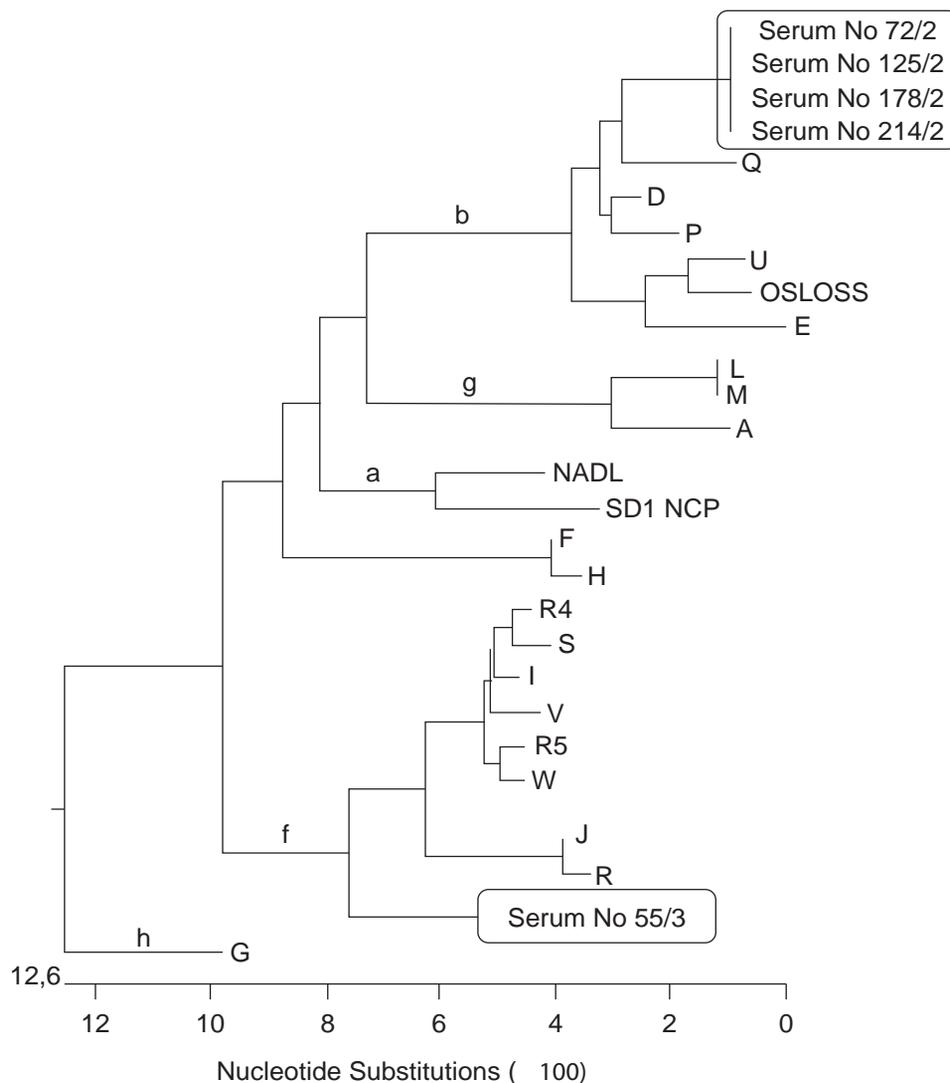
Далі за допомогою методу ПЛР у реальному часі було виявлено присутність РНК вірусу діареї великої рогатої худоби у 5 з 1068 зразків (0,5%). У другому та третьому господарствах виявили у позитивних зразки з 490 (0,8%) та 1 з 301 (0,33%). Генетичний матеріал збудника ВД ВРХ не був встановлений у зразках з першого господарства.

Тварини, сироватка крові яких містила РНК вірусу діареї, але була вільна від антитіл до цього збудника, вважалися персистентно інфікованими. На основі цих критеріїв кількість зразків, досліджених обома методами, становила 1047 з 1080. Усі 5 вірусемічних зразків були серологічно негативні. Таким чином, у ході проведених досліджень було встановлено, що 5 з 1047 (0,48%) тварин є персистентно інфікованими. Вік виявлених ПІ тварин становив 2, 4, 5 і 8 міс.

За допомогою генотипування виявлених ізолятів вірусу діареї було встановлено, що всі вони належать до 1-го генотипу. Після проведення філогенетичного аналізу було з'ясовано, що виділені ізоляти представлені 2 підтипами 1-го генотипу — b та f (рисунок). Усі чотири зразки збудника ВД ВРХ з другого господарства належали до підтипу 1b і були ідентичні в ділянці гена 5'-UTR, проте вірус діареї з третього господарства був ідентифікований як представник підтипу 1f.

Генетичне різноманіття, продемонстроване в даному дослідженні, описує приналежність ізолятів до штамів вірусів діареї підтипу 1b на відстані не більше 2–4%. Такі дані є характерними для подібних досліджень в усьому світі. Виділені віруси цього підтипу є схожими на всі віруси діареї, виділені в Україні.

Іншим виявленим підтипом був 1f. Вірус діареї даного підтипу був виявлений у декількох країнах центральної та західної України, отже, він не є унікальним для Харківської області. Розбіжність досліджуваного ізоляту з вірусом генотипу 1f становила 4,5%.



Генотипування ізолятів вірусу діареї ВРХ за ділянкою гена 5'-UTR

У сучасній науковій літературі є описання значної ролі вірусу діареї 1-го генотипу в епідеміології ВД ВРХ по всьому світі. Даний збудник демонструє значне розповсюдження у всіх європейських країнах і тільки декілька з них стали вільними від вірусу діареї внаслідок здійснення програм ерадикації шляхом вилучення ПІ тварин та/або вакцинації.

Дослідження генетичних розбіжностей вірусів дає змогу вивчати молекулярне різноманіття вірусів для подальшого створення ефективних засобів профілактики, а також встановлювати походження й джерела вірусної контамінації для визнання епідеміології і створення програм контролю та знищення збудника.

Висновки. Був продемонстрований високий рівень серопревалентності вірусу діареї ВРХ (20,1–85%) в господарствах Харківської області. За допомогою ПЛР у реальному часі РНК збудника ВД ВРХ було виявлено в 0,33–0,8% досліджуваних тварин. Після секвенування було доведено, що виявлені віруси належать до вірусу діареї ВРХ 1-го генотипу та поділяються за ділянкою гена 5'-UTR на два підтипи – 1b і 1f.

1. *Identification of a new group of bovine viral diarrhea virus (BVDV) strains associated with severe outbreaks and high mortalities* / [C. Pellerin et al.] // *Virology*. – 1994. – 203. – P. 260–268.
2. *Genetic and antigenic characterization of novel Pestivirus genotypes: implications for classification* / [P. Becher et al.] // *Virology*. – 2003. – 311. – P. 96–104.
3. *The extended genetic diversity of BVDV-1: typing of BVDV isolates from France* / [A. Jacková et al.] // *Vet. Res. Commun.* – 2008. – 32. – P. 7–11.
4. *Nettleton P.F. Ruminant pestiviruses* / P. F. Nettleton, G. Entrican // *Br. Vet. J.* – 1995. – 151. – P. 615–642.
5. *Chase C.C. The immune response to bovine viral diarrhea virus: a constantly changing picture* / C.C. Chase, G. Elmowalid, A.A. Yousif // *Vet. Clin. North. Anim. Pract.* – 2004. – 20. – P. 95–114.
6. *Houe H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections* / Houe H. // *Vet. Microbiol.* – 1999. – 64. – P. 89–106.
7. *Evaluation of economic effects and the health and performance of the general cattle population after exposure to cattle persistently infected with bovine virus diarrhea virus in a starter feedlot* / B.E. Hessman // *Am. J. Vet. Res.* – 2009. – 70. – P. 73–85.
8. *Cytopathic bovine viral diarrhea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction* / E. Peterhans // *Vet. Res.* – 2010. – 41(6). – P. 44–58.
9. *Weldegebriel H.T. Evaluation of producer and consumer benefits from eradication of bovine viral diarrhea (BVD) in Scotland, United Kingdom* / H.T. Weldegebriel, G.J. Gunn, A.W. Stott // *Prev. Vet. Med.* – 2009. – 88. – P. 49–56.
10. *Becher P. RNA recombination between persisting pestivirus and a vaccine strain: generation of cytopathogenic virus and induction of lethal disease* / P. Becher, M. Orlich, H.J. Thiel // *J. Virol.* – 2001. – 75. – P. 6256–6264.
11. *Van Oirschot J.T. Vaccination against bovine viral diarrhea* / J.T. Van Oirschot, C.J. Brusckhe, J. Mertsola // *Vaccine*. – 1999. – 17. – P. 1983–1991.
12. *Ministry of agrarian policy and food of Ukraine. The amount of cattle has been increased by 1,8% and pigs by 1,9% in 2012.* <http://minagro.gov.ua/uk/node/3675>. 18.01.2013.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЗБУДИТЕЛЯ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ХОЗЯЙСТВАХ ХАРЬКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А.П. Герилевич, И.В. Горайчук, В.И. Болотин, А.С. Солодянкин

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» (Харьков, Украина)

Вирусная диарея крупного рогатого скота (ВД КРС) – это распространенное контагиозное заболевание, возбудитель которого относится к роду Pestivirus семейства Flaviviridae. Вирус сохраняется в популяции крупного рогатого скота благодаря уникальному сочетанию таких свойств, как передача возбудителя и его персистенция в благоприятном организме. Персистентно инфицированные животные могут ин-

фицироваться болезнью слизистых оболочек, которая характеризуется поражениями желудочно-кишечного тракта и часто приводит к внезапной смерти во всех возрастных группах. Данное исследование было сосредоточено на идентификации персистентно инфицированных животных в хозяйствах Харьковской области, в процессе которого было отобрано и исследовано 1080 образцов сыворотки крови от животных из трех хозяйств Харьковской области. Исследования были направлены на определение наличия специфических антител к вирусу диареи с помощью иммуноферментного анализа и генетического материала возбудителя с помощью ПЦР в режиме реального времени. В этом исследовании было выявлено 5 персистентно инфицированных животных в двух хозяйствах. С помощью дальнейшего филогенетического анализа 5'-UTR (участок 245 п.н.) было проведено генотипирование выявленных изолятов, которое показало принадлежность всех 4 вирусов со второго хозяйства к подтипу 1b и 1 обнаруженного возбудителя в третьем хозяйстве к подтипу 1f.

Ключевые слова: вирусная диарея крупного рогатого скота, ПЦР в режиме реального времени, ИФА, генотипирование, филогенетический анализ

GENETIC ANALYSIS OF BVDV INFECTION IN CATTLE FARMS OF KHARKOV REGION

A.P. Gerilovych, I.V. Goraichuk, V.I. Bolotin, O.S. Solodianskiy

*National scientific centre «Institute of experimental and clinical veterinary medicine»
(Kharkiv, Ukraine)*

Bovine viral diarrhea is a widespread infection of cattle caused by bovine viral diarrhea virus (BVDV), a member of the Pestivirus genus of the Flaviviridae family. The virus persists in the cattle population by a unique combination of transient and persistent infections. Persistently infected animals may succumb to mucosal disease, which is characterized by lesions in the gastrointestinal tract and its invariably lethal outcome. This study was focused on identification persistently infected animals in cattle farms of Kharkov region. For this reason 1080 blood samples from three different farms were tested for presence BVDV specific antibody by ELISA and viral genetic materials by real-time RT-PCR. In this study 5 persistently infected animals were detected in two farms. Following phylogenetic analysis in 5'-UTR (245 bp fragment) was used for the genetic typing of revealed BVDV isolates into subgenotypes. The genetic typing indicated that all 4 viruses from second farm were typed as BVDV-1b and all of them were absolutely identical in 5'-UTR the virus from third farm typed as BVDV-1f.

Key words: bovine viral diarrhea, real-time RT-PCR, ELISA, genotyping, phylogenetic analysis

ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКОЕ КЛОНИРОВАНИЕ В ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

В.В. КЛИМЕНКО, Н.Г. ЛЫСЕНКО, ХАОЮАНЬ ЛЯН

*Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина
(Харьков, Украина)*

*Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)
stemway@gmail.com*

Представлены проблемы и перспективы селекционного процесса у тутового шелкопряда на современном этапе развития репродуктивных технологий в научном шелководстве. Приведены данные о выведенных новых клонах, в которых восстановлена способность продуцировать безлетальных дигамбидных самцов, утраченная старыми рекордными клонами вследствие спонтанного мутагенеза. Рассмотрены источники внутриклональной изменчивости и пути ее использования в селекции. Представлен метод последовательной полиплоидизации для создания обоуполой тетраплоидной расы тутового шелкопряда. Показано, что традиционные методы селекции в сочетании с методами клонирования, получения полиплоидных форм и элиминации летелей подходят для создания открытой партенозиготической популяции тутового шелкопряда, оптимальной для решения задач украинского шелководства.

Ключевые слова: шелководство, партеноклонирование, полиплоидия, летальность, изменчивость

Введение. Благодаря прогрессу в генетических и биотехнологических исследованиях тутового шелкопряда и шелковицы спектр и география прикладных направлений шелководства непрерывно расширяются. В связи с этим формируется новая точка зрения в отношении роли клонирования в селекции тутового шелкопряда. Речь идет о клонировании генотипа путем амеиотического термического партеногенеза [1], который, в отличие от трансядерного клонирования, эффективен, прост и надежен. В пользу метода свидетельствует стабильное воспроизведение характерных морфологических и физиологических признаков у клонов тутового шелкопряда, включая саму способность к партеноклонированию. Эта особенность клонирования оптимальна для задач селекции — достаточно получить клоны, обладающие нужными признаками. Наличие исходного клона Р29, который был выведен в лаборатории Б.Л. Астаурова, с высокой, близкой к 100%, способностью к термическому партеногенезу

© В.В. Клименко, Н.Г. Лысенко, Хаюань Лян, 2013

упрощает эту задачу: скрещивая его с самцами, несущими требуемый признак, уже от самок в F1 и F2 можно получать новые клоны с изучаемым признаком. Клон P29 отличается высоким уровнем индивидуальной гетерозиготности, поскольку прямое партеноклонирование самок из инбредного материала на практике не удается [2]. Уникальность этого клона состоит также в том, что при мейотическом партеногенезе от него можно получать абсолютно гомозиготных, не содержащих леталей самцов. Значение безлетальных самцов в селекции клонов сложно переоценить, поскольку их потомство от скрещивания с самками инбредных линий приобретает способность к партеногенезу [3]. Однако в последние годы многократные попытки получения партеногенетических сыновей из клона P29 и клонов, производных от него, [4] были безуспешны, что объясняется возникновением леталей во всех хромосомах диплоидного набора [5]. Это вызвало необходимость выведения новых клонов, сравнимых по эффективности репродукции с клоном P29 и способных через мейотический партеногенез производить безлетальных, полностью гомозиготных партеногенетических сыновей.

Особенность селекции у тутового шелкопряда состоит в возможности закрепления уникальных генотипов в виде клонов. Если в линиях вследствие остаточной гетерозиготности сохраняется индивидуальная генетическая вариация даже после многих поколений инбридинга, то клон с момента его закладки сохраняет неизменной ядерную и цитоплазматическую наследственность самки-основательницы. Партеноклон, как собрание особей с одним генотипом, синхронно развивающихся в одинаковых условиях, является идеальной моделью для анализа разных типов биологической изменчивости и уточнения таких фундаментальных понятий, как генотип, фенотип и самоклонирование. Мы установили и исследовали явление внутриклональной изменчивости у тутового шелкопряда, которая способна осложнить ход селекции, если учитывается только единичный фенотип.

В связи с вышеизложенным целью данного исследования стало создание партенозиготического пула генотипов, вмещающего все известные ценные признаки и генетические модификации тутового шелкопряда, который допускает фиксацию интересных и/или ценных форм на любом уровне селекции.

Материалы и методы исследований. В работе использован материал из лабораторной коллекции тутового шелкопряда, которая насчитывает 22 клона и 10 линий. Разнообразие клонов получено в первом и втором поколениях аутбридинга после скрещивания самок астауровского клона P29 [6] с самцами линий. При работе использованы следующие генетические маркеры: пигментация серозной оболочки развивающегося яйца (w_2 – отсутствие пигмента, re – красная сероза), окраска личинок по вылуплении из яйца (ch – рыжие «мураши»), дорзальный рисунок кожных покровов личинки (L – множественная пятнистость, то есть наличие оранжевых пятен на нескольких сегментах личинки, Kb – бугристость рисунка), пигментация межсегментных участков покровов личинки (Ze – зебровые гусеницы), а также некоторые другие маркерные гены [7].

Для закладки или воспроизводства клонов использовали метод теплового шока – водный прогрев неоплодотворенных яиц при 46°C в течение 18 мин, при котором происходит подавление редукционного деления созревания (с одновременным сохранением функциональности эквационного деления) и выживание начавшего развиваться зародыша в ооплазме, подвергнутой сублетальному прогреву (амейотический вариант партеногенеза) [8]. Для получения полностью гомозиготных партеногенетических сыновей неоплодотворенную грену материнского клона промораживали при –11°C в течение 30 мин (мейотический вариант партеногенеза: мейоз протекает нормально) [9].

Анализ фенотипической изменчивости в зависимости от положения ооцита в овариоле включал анатомирование бабочек, препарирование целых овариол и разрезание их на определенное число примерно равных отрезков. Использование клонов позволяет набрать достаточное количество неоплодотворенных яиц для каждого из выбранных участков овариолы, различия между которыми вдоль овариолы сводятся к разнице во времени их образования в гермариин. В имаго тутового шелкопряда 95% всех яиц могут заведомо считаться зрелыми, поскольку откладываются нередко самкой в течение одного часа первого дня откладки.

Для цитогенетического анализа полиплоидизации в диапаузирующем зародыше тутового шелкопряда использованы методы, представленные в ряде наших публикаций [10, 11]. Метод определения плоидности клетки диапаузирующего зародыша основан на прямом подсчете зерен гетерохроматина в ядрах клеток на этой стадии развития [12].

Проверку распределения количественных дат на соответствие закону нормального распределения в больших группах проводили, рассчитывая показатели асимметрии и эксцесса с последующей проверкой нулевой гипотезы об их равенстве. Разница частот исследуемых признаков оценивалась с помощью χ^2 -преобразования Фишера путем угловой трансформации. Проверку статистических гипотез проводили на уровне значимости $p < 0,05$ [13]. Базы данных были созданы в программе MS Excel 2010 for Windows XP. Расчеты выполняли в программах MS Excel 2010 и Statsoft STATISTICA 7.0.

Результаты исследований, их обсуждение.

Предпосылки для использования ди- и полигаплоидов в селекции. Составной частью высокой гетерозиготности генотипа клона P29 [14] являются локусы с летальными и полуметаллельными, прикрытые нормальными аллелями, а скрытая летальность выявляется при мейотическом типе партеногенеза. В этом случае развитие доходит до вылупления личинки, только если гаплоидный набор хромосом женского пронуклеуса, образующегося в результате прошедшего мейоза, не содержит леталей, W-хромосомы, и удваивается в самом начале дробления. Вследствие этого выжившими оказываются гомозиготные безлетальные особи с удвоенной Z-хромосомой, то есть самцы.

После утраты клонами коллекции способности к производству гомозиготных самцов мы заложили несколько сотен новых дочерних клонов от самок

F1, полученных скрещиванием P29 с различными маркерными линиями. К 2010 г. было отобрано более десятка клонов с высокими показателями, но только один из них – P14 после осенней выкормки того же года, после мейотической криоактивации дал заметное количество черных и рыжих (*ch*) личинок. Способность P14 к партеноклонированию сравнима с таковой клона P29—98% вылупления после термоактивации по Б.Л. Астаурову. Выход мурашей вследствие криоактивации продолжался в течение 5 дней (табл. 1).

1. Выход личинок из неоплодотворенной грены клона P14, стимулированной к развитию помораживанием при -11°C в течение 30 мин

Дата вылупления	Фенотип личинок по вылуплении		
	<i>ch</i> ⁺ черные	<i>ch</i> рыжие	<i>ch</i> ⁺ – <i>ch</i>
15.09.2012	53	61	– 8
16.09.2012	89	116	–27
17.09.2012	70	90	– 20
18.09.2012	7	2	+ 5
19.09.2012	0	2	– 2
Всего	219	271	– 52
По Менделю	245 (–26)	245 (+26)	0

Поскольку клон P14 гетерозиготен по рецессивному маркеру *ch*, выход рыжих мурашей свидетельствует о прохождении мейоза, или, в данном случае, о мейотическом партеногенезе. Однако если ранее во всех подобных случаях, включая клон P29, наблюдалось некоторое постоянное преобладание черного фенотипа мурашей, то теперь – преобладание рецессивного фенотипа, особенно в дни массового выхода (табл. 1). Отклонение от теоретического расщепления в рассматриваемом локусе ($p < 0,05$) свидетельствует о том, что эмбриональное развитие особи с удвоенными хромосомами с диким аллелем проходит хуже, чем у особи с удвоенными хромосомами с рецессивным маркером. Выход мурашей из криоактивированной грены составил 4,4% (490 личинок из 11157 активированных яиц), тогда как в клоне P29 он не превышал 3%.

Выкормка гомозиготных самцов представляет известные трудности в связи с тем, что в генетическом отношении каждый возникший эмбрион уникален, его генотип – это выборка по одной хромосоме из 28 пар хромосом материнского клона. Сложная гетерозиготность родительского клона проявляется сразу с момента вылупления: процесс выхода личинок продолжительнее нормы на 2–3 дня ($p < 0,05$), что свидетельствует о разных темпах эмбриогенеза, а личинки отличаются по скорости развития. Этапы получения уникального на данный момент материала представлены на рис. 1.

На стадии имаго было получено 5 гомозиготных самцов из 13, завивших коконы. Из пяти самцов только два оказались в разной степени плодовитыми при скрещивании с самками материнского клона. От одного самца были по-

лучены кладки после двух первых скрещиваний. Второй самец оказался менее плодовитым, две кладки от «самооплодотворения» имели меньше трети оплодотворенных яиц каждая. Полученного количества яиц достаточно для проведения ряда селекционно-генетических исследований теоретического и прикладного характера. Например, интеграции в спектр гаплоидных безлетальных геномов генов хозяйственно-ценных признаков, трансгенов и создания партенозиготической популяции. Партенозиготическая популяция способна сохранять на разных этапах отбора способность к партеноклонированию любого отдельного генотипа без необходимости переводить определяемое им ценное сочетание признаков в инбредную линию путем длительного отбора. Такая популяция представляет ценность для генетического анализа способности к разным типам партеногенеза, а также анализа других сложных признаков у тутового шелкопряда. При необходимости возможно клонирование генотипа каждого гомозиготного самца посредством андрогенеза [1, 15].



Рис. 1. «Самооплодотворение» у тутового шелкопряда.

В верхнем ряду: слева – выкормка партеногенетических сыновей из неоплодотворенной грены материнского клона P14 после активации ее промораживанием; в середине – пять коконов гомозиготных самцов в сравнении с двумя коконами материнского клона; справа – копуляция гомозиготного самца с самкой материнского клона. В нижнем ряду: кладки, полученные от разных самцов путем «самооплодотворения» – самцы №1 и 5 не смогли спариться и не оставили потомства; из пяти кладок от самца №2 (индекс 142) темная оплодотворенная гrena имеется только в двух; самец №3 (143) имел более низкую плодовитость, чем №2; самец №4 (144) спарился, но оказался стерильным

Партеноклонирование и трансплоидная изменчивость. Партеноклонирование предоставляет возможность эффективной репродукции полиплоидов – успешная продолжительная репродукция тетраплоидного клона Р4n17, созданного Б.Л. Астауровым. С момента появления первых клонов тутового шелкопряда установлено, что полиплоидия сопутствует искусственному партеногенезу: в грене, отложенной клональными самками, были обнаружены более крупные яйца, которые оказались тетраплоидными. От осеменения 4n-яиц диплоидными самцами были получены триплоидные партеноклоны, в которых также вскоре было показано генетически наличие яиц удвоенной ploидности (6n), хотя размером они не отличались от диплоидных. Позже был создан тетраплоидный обоеполюый вид тутового шелкопряда [15].

До получения генотипов с предельной способностью к клонированию возникновение ооцитов удвоенной ploидности объясняли аномальностью развития вследствие несовершенства метода клонирования. Позже в грене высокопродуктивных клонов по-прежнему обнаруживали примесь тетраплоидных яиц [4]. Согласно предположению Б.Л. Астаурова клетки удвоенной ploидности являются результатом случайного (аномального) слияния ядер в процессе дробления и последующего их включения в герминативную линию [15]. Однако слияние клеток герминативной линии нельзя исключить и на более поздних стадиях развития вследствие пролонгированного действия теплового шока, используемого в репродукции партеноклонов.

Наши исследования подтверждают гипотезу Б.Л. Астаурова соматической полиплоидизации в двух вариантах развития. При зиготическом развитии в соме диапаузирующего зародыша обнаружены только диплоидные и изредка тетраплоидные клетки, а клетки герминативной линии диплоидны. При клональном развитии в соматической части зародыша в дополнение к ди- и тетраплоидным клеткам найдены также гекса- и октоплоидные клетки, а среди герминативных клеток – клетки тетраплоидные, причем задолго до формирования гонад [12]. Происхождение гексаploидных соматических клеток можно объяснить только слиянием трех диплоидных клеток либо слиянием диплоидной и тетраploидной клеток еще до наступления диапаузы. Поскольку в герминативной линии в зиготическом случае никакой полиплоидизации не происходит, присутствие 4n-клеток при партеногенезе объясняется слиянием ядер еще в период дробления. В одном из сотен исследованных диапаузирующих зародышей мы обнаружили гексаploидную клетку в герминативной линии (рис. 2). Редкость гексаploидных клеток на этой стадии развития объясняется тем, что всего герминативных клеток около десяти.

Таким образом, в грене диплоидных партеноклонов возможно присутствие не только тетраploидных, но и гексаploидных яиц. Можно ожидать, что в грене диплоидного клона, полученной от скрещивания с диплоидным самцом, кроме редких триploидных яиц ($4n \times 2n$), отличающихся большими размерами (рис. 3), встречаются еще более редкие тетраploидные ооциты ($6n \times 2n$) диплоидного размера. Если эти оплодотворенные яйца доходят в развитии до стадии имаго, они могут привести осложнения в генетический анализ как в скрещиваниях, так и при партеноклонировании.

Примесь в клональной грене яиц более высокой ploидности является непосредственно обусловленной характеристикой нестабильности партеногенетического развития, приводящей путем слияния ядер дробления к полиплоидизации в герминативной линии (табл. 2).

2. Частота тетраплоидных ооцитов в кладках астауровского клона P29 и его дочерних клонах, оцененная отбором крупной грены с последующим цитогенетическим контролем

Партеноклон	Изученные кладки, шт.	Найденные 4n-яйца, шт.	Доля кладок с 4n-яйцами, %	Количество 4n-яиц в кладке, шт.
P(29×re)n3	337	862	16,0	2,6
P(29×w ₂)n4a	174	1534	47,8	8,8
P(29×w ₂)n7	133	298	21,8	2,2
P29	189	790	19,6	4,2

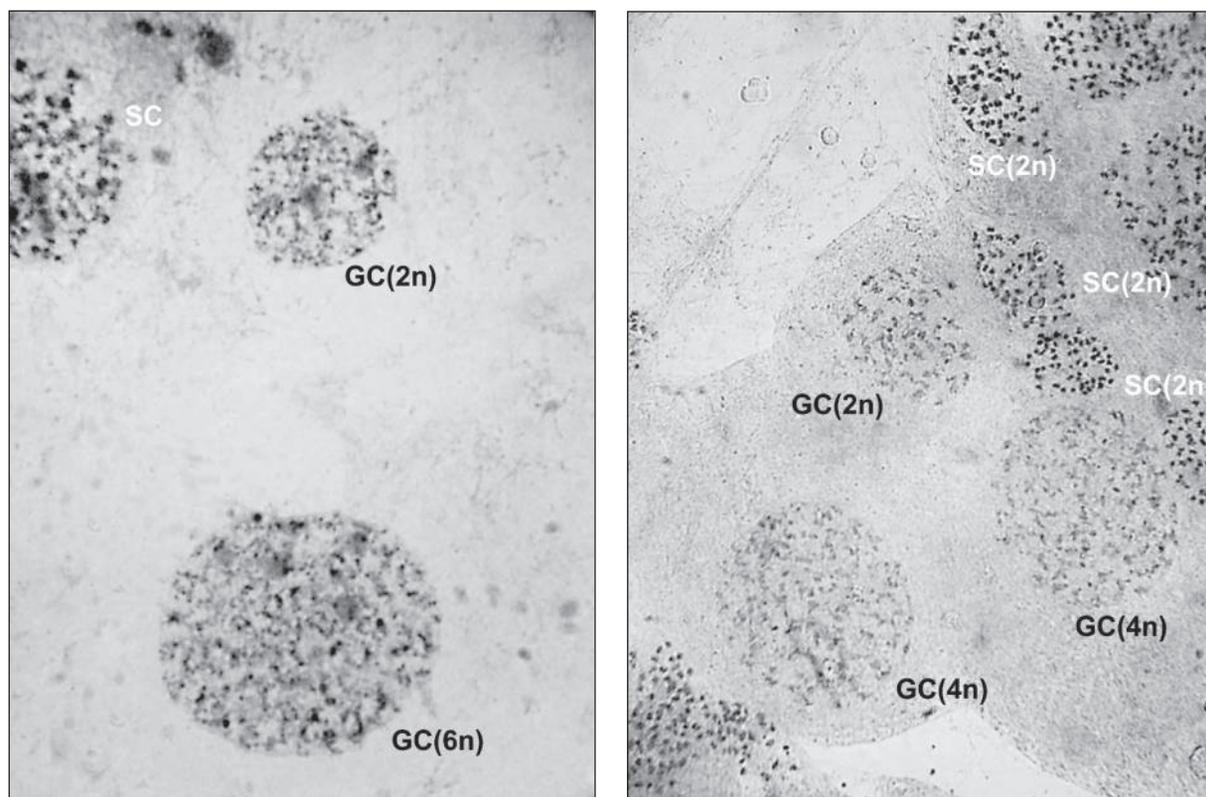


Рис. 2. Полиплоидизация в зародышевой линии партеноклона P29.

Ядра соматических клеток (SC) содержат четкий зернистый хроматин; в ядрах герминативных клеток зерна хроматина разрыхлены, их подсчет для определения ploидности часто затруднен, но возможен (правый препарат); при невозможности подсчетов ploидность легко определяется по размерам ядер (слева)

Частота тетраплоидных ооцитов в кладках самок диплоидных клонов следует распределению редких событий по Пуассону (табл. 2). При репродукции клона из кладок, не содержащих $4n$ -ооцитов, новое распределение кладок по содержанию тетраплоидных яиц будет совпадать с таковым для предыдущего поколения, то есть полиплоидизация в оогенезе является наследуемым признаком клона, но не индивидуума. Частота $4n$ -ооцитов в кладках является типичным примером фенотипической изменчивости в клонах [16].

Вследствие полиплоидизации клон может засоряться удвоенными, с прежним составом генов, и рекомбинантными генотипами. Тетраплоидные ооциты, извлеченные из овариол и оставленные на воздухе на несколько часов, с большей вероятностью, чем диплоидные, приступают к спонтанному развитию, которое всегда проходит по мейотическому типу. В результате мейоза образуется диплоидный женский пронуклеус, развитие которого может проходить нормально, если сублетальный прогрев его не заблокирует.

В мейозе у самок тутового шелкопряда отсутствует кроссинговер, тетраваленты у тетраплоидов практически не образуются, и в женский пронуклеус попадает по одной хромосоме из 56 гомологичных пар. Если из четырех половых хромосом ZZWW в диплоидный пронуклеус попадают две Z-хромосомы, то развивается диплоидный рекомбинантный самец (рис. 3, В) [17]. Этих партеногенетических сыновей также можно использовать для «самооплодотворения» клона. Их отличия от полностью гомозиготных самцов связаны с их заведомо большей гетерозиготностью. Если в каждом из пары гомологов имеется по летали, то гомозиготных сыновей (рис. 3, А), возникающих из $2n$ - и $4n$ -ооцитов, не будет. Попадание в диплоидный пронуклеус той же пары гомологов, которые находятся в материнском генотипе, определенно увеличивает вероятность выживания (рис. 3, верхняя левая часть схемы). При полной гомозиготности самцов и отсутствии в норме кроссинговера у самок [18] возможен отбор в отсутствие внутривхромосомной рекомбинации (рис. 3, А). При необходимости перестройки генов одной хромосомы можно использовать рекомбинантных партеногенетических сыновей и, проводя отбор по нужным признакам, все еще оставаться в рамках генотипа материнского клона (рис. 3, В).

Экспериментальные данные показывают, что возможен возврат партеногенетического потомства диплоидного клона к половому размножению. Такое потомство может быть получено как путем мейотического партеногенеза, так и путем амейотического. Только мейотический партеногенез приводит в диплоидных ооцитах к возникновению полностью гомозиготных сыновей, а в тетраплоидных – к формированию диплоидных рекомбинантов. Следует отметить, что реверсия с тетраплоидного уровня на диплоидный при партеногенезе (апозиготии) и соответственно расщепление контролируемых признаков в диплоидном (дигаплоидном) потомстве показаны у некоторых растений, например у сахарной свеклы [19]. Очевидной предпосылкой возможности возврата к половому размножению в клоне является гетерогаметность (ZW) женского пола у тутового шелкопряда.

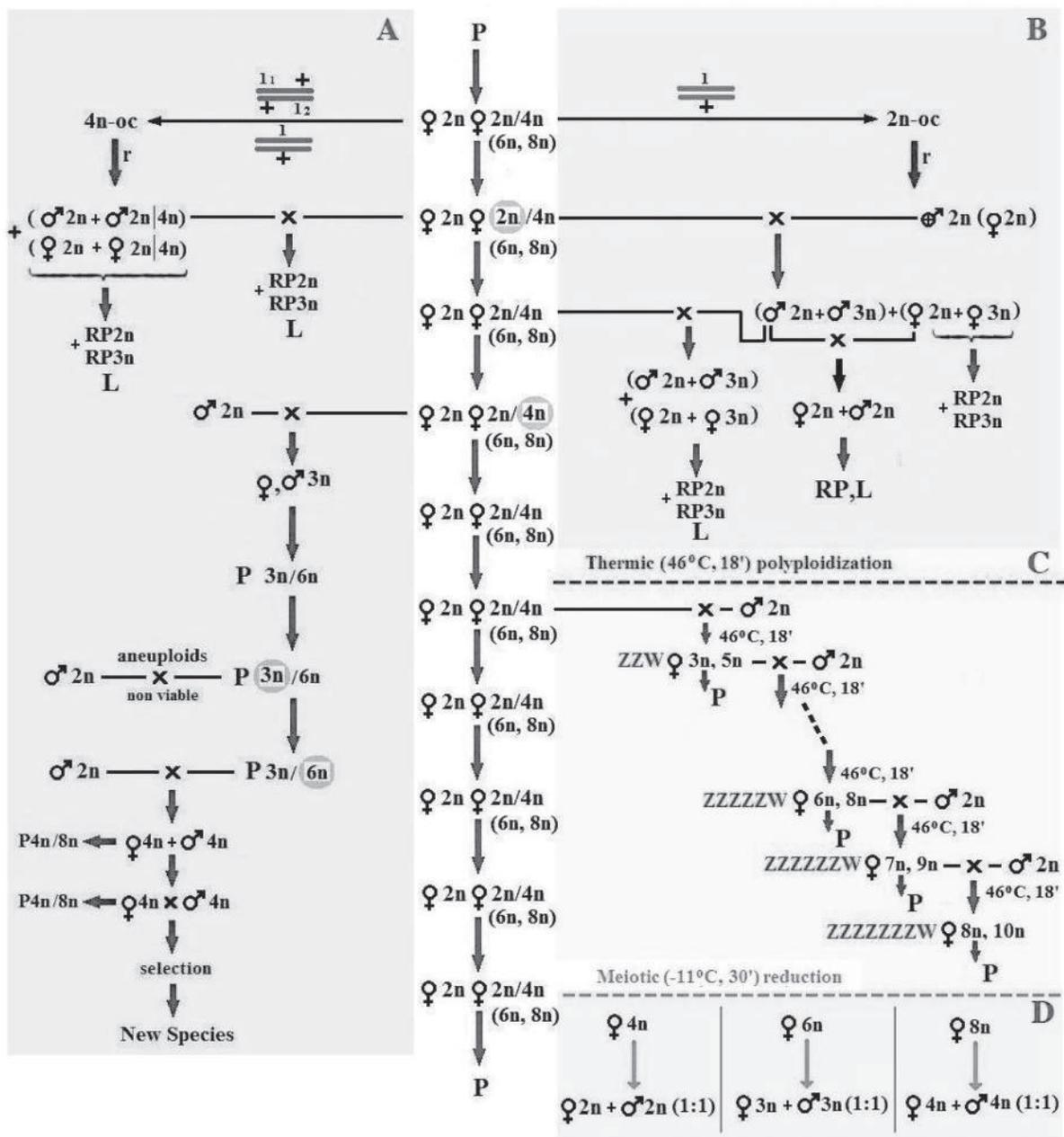


Рис. 3. Возможные направления отбора в партенозиготической популяции тутового шелкопряда. Мейотический партеногенез и хромосомная рекомбинация (r) в тетраплоидных (А, 4n-ос) и диплоидных (В, 2n-ос) ооцитах диплоидного клона (P – клонирование; RP – рекомбинантные клоны; L – обоеполые линии)

На основе клонального генотипа, используя для «самооплодотворения» гомозиготных и рекомбинантных самцов, возможно создание открытой популяции. Особенность такой популяции заключается в возможности селекции и клонирования ценных генотипов в каждом ее поколении, поэтому популяцию с такими свойствами мы назвали партенозиготической (рис. 3). В настоящее время для создания партенозиготической популяции мы проводим отбор клонов, способных производить через мейотический партеногенез полностью го-

мозиготных самцов. Скрещивание таких клонов друг с другом с помощью их партеногенетических сыновей открывает перспективы для создания клонов с группами сцепления без леталей.

Присутствие в паре гомологов леталей (l_1 и l_2) в транспозиции делает невозможной селекцию по схеме В, оставляя возможность получения диплоидов обоего пола только через реверсию тетраплоидных ооцитов ($4n$ -ос), если ревертант сохраняет транспозицию леталей. Возникающие при реверсии миксоплоиды ($2n/4n$) расширяют спектр изменчивости в поколениях, вплоть до возможности получения обоеполюх тетраплоидов.

Селекция по схеме А возможна, даже если в каждой паре гомологов летали имеются только в одной хромосоме и они прикрыты нормальными аллелями гомолога. Она подходит для быстрого создания абсолютно гомозиготных безлетальных андрогенетических клонов, которые в перспективе могут улучшить качество селектуемого материала путем ликвидации леталей. В схеме С предусмотрено последовательное прибавление мужских гаплоидных наборов к хромосомному набору клона с последующей возможной реверсией (D) созданных клонов на вдвое меньший уровень пloidности.

Термическая полиплоидизация и получение полиплоидных форм тутового шелкопряда. Помимо получения полиплоидов на основе партеногенеза, существуют и другие возможности решения этой задачи. Полиплоидные формы у тутового шелкопряда возможно получить при различных обработках осемененных яиц: прогреве при 40°C в течение 60 мин, колхицинировании, центрифугировании, воздействии CO_2 и охлаждении при -10°C [20]. Разнородность вариантов развития, возникающая при использовании перечисленных методов, затрудняет раннюю идентификацию полиплоидов методами цитогенетического анализа и получение их в количествах, достаточных для планомерных исследований. Главной причиной фактического выпадения полиплоидов из селекции следует считать не трудность их получения, а практическую невозможность репродукции полученных полиплоидов [15].

В наших исследованиях для получения полиплоидов [17] используем метод термического клонирования для прогрева свежееосеменной грены. В этом случае (рис. 3, С) в прогретом яйце сохраняется неизменным генотип матери в форме диплоидного женского пронуклеуса, с которым может слиться гаплоидный мужской с образованием триплоидного женского генотипа ($2AZW + 1A_1 Z = 3(AA + A_1)ZZW$). На маркерах пигментации серозной оболочки яйца мы показали, что после теплового шока выход личинок из яиц от скрещивания клона Р50 с самцами ge971 составляет более 40%; из них до IV возраста доживает также около 40% вышедших личинок, то есть около 16% обработанных яиц. Оценка доли триплоидов в IV возрасте по маркерам практически совпала с оценкой, полученной прямым определением пloidности методом подсчета зерен хроматина в ядрах клеток диапаузирующих зародышей. Из выкормленного материала было заложено 15 клонов. Из них по результатам цитогенетического анализа 13 клонов (86,7%) были триплоидными, и 2 клон (13,3%) – диплоидными. В

нескольких ди/триплоидных мозаичных эмбрионах выявлены пентаплоидные клетки, которые образуются путем слияния диплоидного и триплоидного ядер из участков разной ploидности эмбриона. Если такие полиплоидные ядра вовлекаются в зародышевую линию эмбриона, то спектр полиплоидных гамет расширяется, что представляет интерес как для селекционера, так и для биолога-эволюциониста [21].

Изложенный метод позволяет увеличивать ploидность клона на один гаплоидный набор за один цикл. Через семь циклов возможно создание октоплоидного клона с формулой половых хромосом $ZZZZZZZW$. Реверсия такого клона вследствие мейотического партеногенеза на тетраплоидный уровень должна привести к появлению самок и самцов в соотношении 1:1. Таким путем возможно создание обоеполой тетраплоидной расы тутового шелкопряда [15]. Реверсия на вдвое меньший уровень ploидности возможна и на более ранних циклах полиплоидизации (рис. 3, D) [9].

Внутриклональная изменчивость. Применение клонирования в селекции представлено на рис. 3. Эта схема отражает только те изменения генотипа, которые можно получить или ожидать, используя богатство репродуктивных возможностей тутового шелкопряда. Для планирования селекционных исследований следует учитывать и результаты изучения фенотипической изменчивости в клонах [16, 20, 2]. Общность этих положений не зависит ни от видовой специфики тутового шелкопряда, ни от метода клонирования. Трансядерное клонирование по сути является не чем иным, как искусственным партеногенезом с замещенным ядром [22]. Если в случае шелкопряда яйцо стимулируется к развитию тепловым шоком, то в трансядерном клонировании эту роль выполняет электрический стимул. Внутриклональная изменчивость показана на клоне P5D и его характерном признаке – пятна на I–VI сегментах личинки (*L, Kb*). Этот качественный признак, если учитывать содержание пигментов в пятнах, можно рассматривать и как количественный (рис. 4).

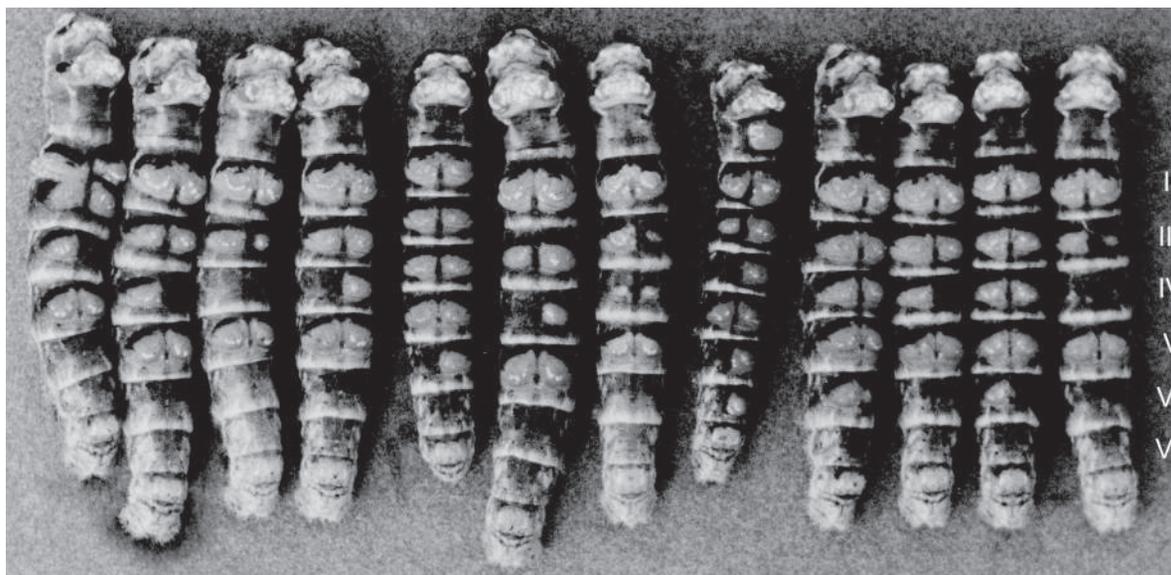


Рис. 4. Фенотипическая изменчивость личинок клона P5D при синхронном развитии до середины V возраста в одних условиях

Проявление любого признака в клоне носит стохастический характер. Это общее положение не препятствует получению всевозможных количественных оценок для самых разных признаков биологических объектов. Именно на таком фоне проявляются закономерности наследования в клонах:

- внутриклональная фенотипическая изменчивость включает в качестве нестохастического компонента овогенетическую изменчивость — зависимость проявления признака в фенотипе от положения ооцита в яичнике [22, 23];

- управление степенью проявления признака возможно через воздействия, например температурные, в фенокритической фазе изучаемого признака [16].

Овогенетическая изменчивость в наших исследованиях была установлена на трансплантационных клонах из яиц, развившихся в яичниках клона Р29, пересаженных в полость тела самцов на личиночной стадии. Мураши, полученные из разных половин овариолы после термоактивации содержащихся в них яиц, значительно отличались между собой по морфофизиологическим признакам, хотя имели один генотип [22]. Параллельные пересадки яичников самкам той же реципиентной линии давали единообразное трансплантационное потомство с фенотипом донора яичников [24]. Следовательно, клонируемые зрелые ооциты яичника имаго тутового шелкопряда не являются эквипотенциальными в отношении развития, и различия между ними выявляются в провокационных критических условиях.

С использованием нескольких вариантов партеногенеза, известных у тутового шелкопряда, была выполнена оценка потенциала развития зрелого ооцита до оплодотворения в зависимости от времени его возникновения и/или положения в яичнике у клональных самок. Полученные результаты показывают отсутствие эквипотенциальности зрелых ооцитов в отношении пенетрантности изучаемого признака, если они расположены в разных частях овариолы. При этом диапазон овогенетической изменчивости зависит от стабильности изучаемого морфологического признака, вследствие чего при нормальной клональной репродукции она была изучена в первую очередь на признаках с неполным проявлением (рис. 4). В этом случае показано, что степень проявления бугристых оранжевых пятен на данном сегменте личинки зависит от положения в овариоле, то есть от времени возникновения ооцита, давшего начало данной особи. На другом сегменте пенетрантность пятен может отличаться, и это отличие определяется генотипом клона, например наличием других генов, влияющих на рассматриваемый признак [25].

Если степень проявления признака у данной особи зависит от времени возникновения давшего ей начало ооцита, то распределение этого признака в большой выборке особей клона должно отличаться от нормального распределения. В качестве наиболее удобного признака для такого исследования был взята полная пигментация неоплодотворенных яиц, развивающихся путем спонтанного партеногенеза после откладки самкой. В опытах использовали синхронизированных по выходу из кокона неосеменных бабочек клона Р29. Порции яиц, отложенные 65 самками в один из 12 последовательных дней, оценивали

по доле пигментированных яиц. Эту оценку принимали за потенциал развития ооцитов в участке овариолы, соответствующем дню откладки (рис. 5).

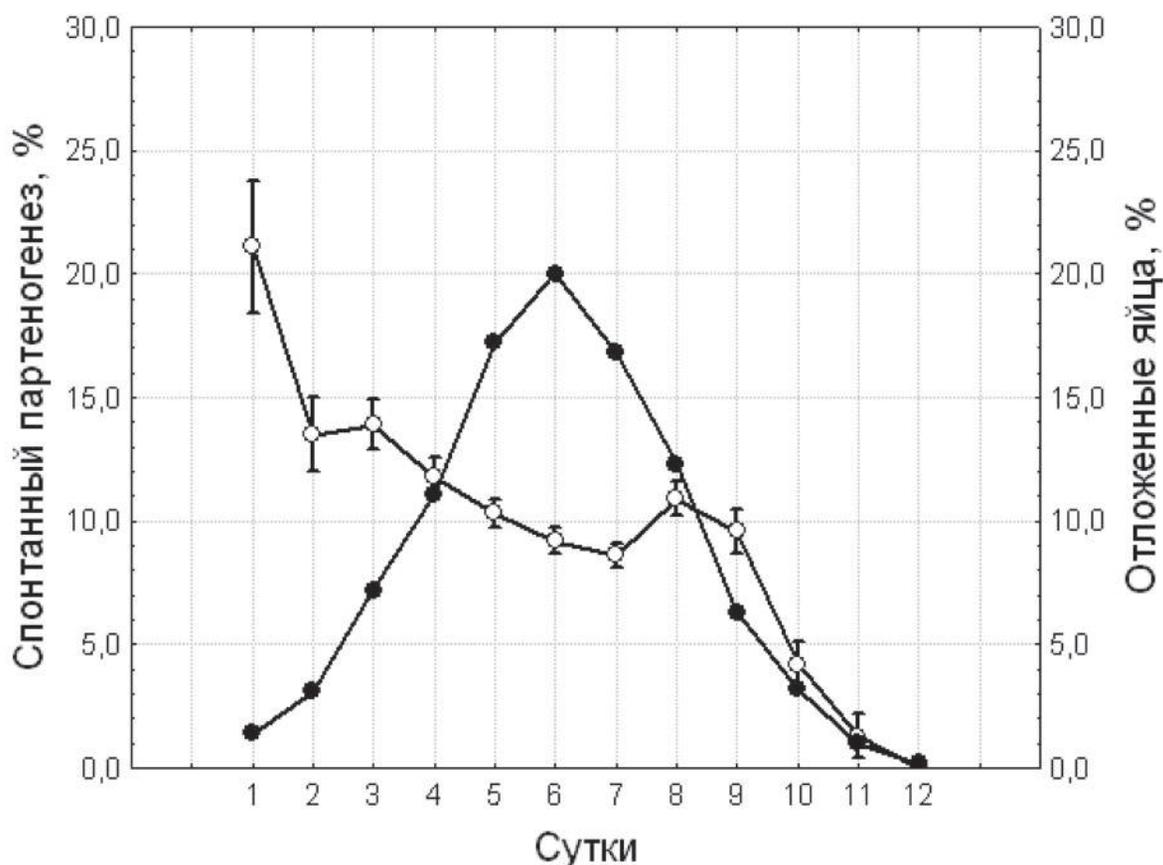


Рис. 5. Спонтанный партеногенез (1) в порциях суточной грены (2), отложенной виргинными самками клона Р29 за 12 суток (65 бабочек, 28688 учетных яиц)

Полученные данные свидетельствуют о том, что яйца тем лучше пигментируются, чем ближе они располагаются к яйцекладу, то есть чем раньше они возникли в апикальной части яичника. При этом их одинаковая степень зрелости подтверждается способностью к термоактивации, единообразием блока мейоза в метафазе I [26]. Кроме того, способность к полному мейотическому и амейотическому партеногенезу не ниже, а часто выше в проксимальной части овариолы, чем в дистальной [27]. Овогенетическая изменчивость затрагивает в первую очередь признаки раннего онтогенеза: пигментацию яиц, окраску покровов мурашей, эмбриональную жизнеспособность и т.д. Управление овогенетической изменчивостью лежит в основе управления процессом оогенеза.

Выводы. Систематизированы возможности использования партеногенетического клонирования, открытого Б.Л. Астауровым, в современном шелководстве.

Получены рекордные клоны с восстановленной способностью к мейотической гомозиготизации.

Проанализированы обнаруженные типы внутриклональной изменчивости и пути их использования в селекции.

Показана полиплоидизация в герминативной линии тутового шелкопряда при разных видах партеногенетического размножения, что позволяет объяснить появление полиплоидии у партеногенетических форм в природе и в эксперименте.

Представлен метод последовательной полиплоидизации, который может быть использован для получения обоеполых четно-плоидных рас тутового шелкопряда.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за помощь в проведении исследований и сохранение коллекции Генеральному секретарю Международной комиссии по шелководству, бывшему директору Национального института шелководства Франции Ж. Шаванси, профессорам Лионского университета им. Клода Бернара П. Кублю и Ж.К. Прюдому, ректору Токийского университета профессору М. Кобаяши, профессору Т. Шимада, Директору Центра биологических исследований в Ческе Будеевице профессору Ф. Сегналу, Руководителю Центра ДНК-технологий Индии профессору Дж. Нагараджу, Декану биологического факультета Университета Роуд Айлэнд (США) профессору М. Голдсмит, Директору Института шелководства и пчеловодства Италии профессору С. Каппеллоцци, а также доценту кафедры зоологии и экологии животных Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина А.Ю. Утевскому.

1. *Астауров Б.Л.* Искусственный партеногенез и андрогенез у шелковичного червя / Астауров Б.Л. // Бюл. ВАСХНИЛ. – 1936. – № 12. – С. 47–52.

2. *Klymenko V.V.* Parthenogenesis and cloning in the silkworm *Bombyx mori* L.: problems and prospects / Klymenko V.V. // J. Insect. Biotechnol. Sericology. – 2001. – V. 70. – P. 155–165.

3. *Струнников В.А.* Генетические методы селекции и регуляции пола тутового шелкопряда / Струнников В.А. – М.: Агропромиздат, 1987. – 327 с.

4. *Клименко В.В.* Трансполиплоидная комбинативная изменчивость при искусственном партеногенезе у тутового шелкопряда / В.В. Клименко, Т. Л. Спиридонова // Докл. АН СССР. – 1977. – Т. 236, № 3. – С. 740–743.

5. *Клименко В.В.* Внутриклональная изменчивость тутового шелкопряда / В.В. Клименко, В.Ю. Забелина, Н.Г. Лысенко // Материалы междунар. конф., посвященной 75-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова, Москва, 17–18 ноября 2011 г. – М.: Цифровичок, 2011. – С. 161–162 (статья по пленарному докладу выйдет в сборнике этой конференции, который застрял в типографии).

6. *Астауров Б.Л.* Отбор по способности к термическому искусственному партеногенезу и получение улучшенных по этому признаку партеноклонов у шелковичного червя / Астауров Б.Л. // Генетика. – 1973. – Т. 9, № 9. – С. 93–106.

7. *Tazima Y.* The silkworm: an important laboratory tool / Tazima Y. – Tokyo: Kodansha, 1978. – 307 p.

8. *Астауров Б.Л.* Искусственный партеногенез у тутового шелкопряда / Астауров Б.Л. – М.–Л. : Изд-во АН СССР, 1940. – 240 с.
9. *Терская Н.Р.* Методы активации яиц тутового шелкопряда к мейотическому партеногенезу / Н. Р. Терская, В. А. Струнников // Докл. АН СССР. – 1974. – Т. 219, № 5. – С. 1238–1241.
10. *Клименко В.В.* Использование пропионо-гематоксилина для подсчета клеток в яйцах насекомых / Клименко В.В. // Онтогенез. – 1972. – Т. 3, № 3. – С. 326–329.
11. *Щегельская Е.А.* Методы цитологического анализа профазы мейоза у тутового шелкопряда / Е.А. Щегельская, Т.Л. Спиридонова, В.В. Клименко // Изв. АН МССР. Сер. биол. и хим. наук. – 1986. – № 1. – С.67–70.
12. *Клименко В.В.* Хроматин диапаузы тутового шелкопряда *Bombyx mori* L.: термический партеногенез и нормальное развитие / В.В. Клименко, Х. Лян // Цитология. – 2012. – Т. 54, № 3. – С. 218–229.
13. *Лакин Г.Ф.* Биометрия / Лакин Г.Ф. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
14. *Алтухов Ю.П.* Положительная корреляция между уровнем индивидуальной гетерозиготности и способностью к полному термическому партеногенезу у тутового шелкопряда / Ю.П. Алтухов, В.В. Клименко // Докл. АН СССР. – 1978. – Т. 239, № 2. – С. 460–462.
15. *Астауров Б.Л.* Цитогенетика развития тутового шелкопряда и ее экспериментальный контроль / Астауров Б.Л. – М.: Наука, 1968. – 102 с.
16. *Клименко В.В.* Температурный контроль степени проявления морфологического признака в партеноклонах тутового шелкопряда / В.В. Клименко, Л.И. Воробьева, В.Г. Шахбазов // Докл. АН СССР. – 1980. – Т. 252, № 3. – С. 732–735.
17. *Клименко В.В.* Полиплоидия и партеногенез у тутового шелкопряда / В.В. Клименко, Т.Л. Спиридонова // Изв. АН МССР. Сер. биол. и хим. наук. – 1982. – № 4. – С. 32–36.
18. *Sturtevant A.H.* No crossing over in the female of the silkworm moth / Sturtevant A.H. // Amer. Natur. – 1915. – Vol. 49. – P. 42–44.
19. *Эпигенетика растений* : сб. науч. тр. / РАН, Сиб. отд-ние, Ин-т цитологии и генетики; сост.: С.И. Малецкий, Е.В. Левитес. – Новосибирск, 2005. – 373 с.
20. *Клименко В.В.* Партеногенетическое развитие тутового шелкопряда: дис. на соискание науч. степени д-ра биол. наук : 03.00.15 / Вячеслав Викторович Клименко. – Кишинев, 1988. – 379 с.
21. *Экспериментальные триплоиды тутового шелкопряда и происхождение естественной полиплоидии у бисексуальных животных* / В. В. Клименко [и др.] // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. праць. – К.: Логос, 2011. – Т. 11. – С. 65–68.
22. *Klimenko V.V.* Parthenocloning in the silkworm vs. transnuclear cloning in mammals / Klimenko V.V. // European embryo transfer association: 14th scientific meeting (Venice, September 11 – 12, 1998). – 1998. – P. 182.
23. *Zabelina V.* Ovary transplantation in the silkworm *Bombyx mori* L.: parthenocloning by eggs produced in male recipient / V. Zabelina, V. Klymenko // Sericologia. – 2008. – Issue 48, № 2. – P. 123–128.

24. *Silkworm parthenogenesis: phenotypic intraclonal variability* / V. Zabelina [et al.] // 5th BACSA international conference «Sericulture for multi products – new prospects for development» (Bucharest, Romania, April 11–15, 2011). Bucharest: Institute for Bioengineering, Biotechnology and Environmental Protection – S.C. BIOING S.A. – 2011. – P. 49.

25. *Technology of silkworm cloning* / V. Zabelina [et al.] / Current opinion in Biotechnology. – 2011. – Vol. 22. – P. 53.

26. *Клименко В.В. Онтогенетический шум и овогенетическая изменчивость* / В.В. Клименко, Н.Г. Лысенко // *Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр.* – 2012. – Т. 4. – С. 89–94.

27. *Клименко В.В. Элиминационный хроматин и искусственный партеногенез у тутового шелкопряда* / В.В. Клименко, Т.Л. Спиридонова // *Цитология.* – 1979. – Т. 21, № 7. – С. 793–799.

ПАРТЕНОГЕНЕТИЧНЕ КЛОНУВАННЯ В ГЕНЕТИЦІ ТА СЕЛЕКЦІЇ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА

В.В. Клименко, Н.Г. Лысенко, Хаоюань Лян

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна (Харків, Україна)

Розглянуто проблеми та перспективи селекційного процесу у шовковичного шовкопряда на сучасному етапі розвитку репродуктивних технологій у науковому шовківництві. Наведено дані про створених авторами нових клонів, у яких відновлено унікальну здатність продукувати безлетальних дигаметоїдних самців, яку було втрачено старими рекордними клонами внаслідок спонтанного мутагенезу. Розглянуто джерела інтраклональної мінливості і шляхи її використання в селекції. Представлено метод послідовної поліплоїдизації для створення тетраплоїдної раси шовковичного шовкопряда. Показано, що традиційні методи селекції у поєднанні з методами клонування, створення поліплоїдних форм та елімінації леталей у селекційному матеріалі є адекватними для створення відкритої партенозиготичної популяції шовковичного шовкопряда, яка відповідає вирішенню завдань українського шовківництва.

Ключові слова: шовківництво, партеноклонування, поліплоїдія, летальність, мінливість

PARTHENOCLONING IN GENETICS AND BREEDING OF THE SILKWORM

V.V. Klymenko, N.G. Lysenko, Haoyuan Liang

V. N. Karazin Kharkiv National University (Kharkiv, Ukraine)

The problems and prospects of the silkworm selection process at the present level in the development of reproductive technologies in scientific sericulture have been considered. The data on obtained new clones, in which there was restored the unique ability to produce lethal free dihaploid males that was lost in the old record clones due to spontaneous mutagenesis, are given. The sources of intraclonal variability and ways of its use in the selection have been

discussed. The method of successive polyploidization is proposed for constructing of bisexual tetraploid race of silkworm. It is shown, that traditional breeding techniques, combined with the methods of cloning, polyploidy form creation and lethal elimination are the means to create the open parthenozygotic population of the silkworm that will be most adequate to solve the problems of Ukrainian sericulture.

Key words: sericulture, parthenocloning, polyploidy, lethality, variability



УДК 636.2.082:575.113.1

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ МУТАНТНОГО АЛЛЕЛЯ, ВЫЗЫВАЮЩЕГО КОМПЛЕКС АНОМАЛИЙ ПОЗВОНОЧНИКА (СVM) ЧЕРНО-ПЕСТРОГО СКОТА

С.Н. МАРЗАНОВА¹, Д.А. ДЕВРИШОВ¹, И.С. ТУРБИНА¹,
В.А. НАГОРНЫЙ¹,

Я.И. АЛЕКСЕЕВ², Н.В. КОНОВАЛОВА², Д.Г. СОЧИВКО²,
П.И. ЛЮЦКАНОВ³,

М.Х. ТОХОВ⁴, Н.С. МАРЗАНОВ⁴

*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии
имени К.И. Скрябина¹*

*Государственное Научное Учреждение Всероссийский научно-исследовательский
институт сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии, Закрытое
Акционерное Общество «Синтол»²*

*Научно-практический институт биотехнологий в зоотехнии и ветеринарной
медицины Академии наук Молдовы³*

*Государственное Научное Учреждение Всероссийский научно-исследовательский
институт животноводства Россельхозакадемии⁴*

*Приводится краткая характеристика метода определения аллеля, вызывающего
комплекс аномалий позвоночника (СVM) черно-пестрого скота, разводимого в Рос-*

© С.Н. Марзанова, Д.А. Девришов, И.С. Турбина,
В.А. Нагорный, Я.И. Алексеев, Н.В. Коновалова,
Д.Г. Сочивко, П.И. Люцканов, М.Х. Тохов, Н.С. Марзанов, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

сии. Анализ образцов спермы и крови 488 животных из различных регионов Российской Федерации с помощью метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR) показал, что гетерозиготными носителями аллеля 559T гена SLC35A3 являются 10 животных (2,0%), а число особей с нормальным генотипом – 478 (98,0%). Частота аллеля SVM составила 0,01.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, RT-PCR, SVM, аллель

Введение. По данным ФАО, ареал голштинской породы черно-пестрой масти охватывает 128 государств мира. Жесткая селекционная работа при создании голштинской породы привела к тому, что наряду с высокой продуктивностью выдающиеся быки оказались носителями аллелей наследственных заболеваний. Эти мутации распространились по всему миру, являясь «шлейфом» высокой молочной продуктивности. Одним из таких заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования является комплекс аномалий позвоночника (Complex Vertebral Malformation, SVM). Причиной болезни является миссенс-мутация в гене *SLC35A3*, замена гуанина на тимин (G559T), в результате в синтезируемом белке происходит замена аминокислоты валина на фенилаланин в 180 позиций (V180F).

Впервые природа этой патологии изучалась у датского голштинского скота в 1999 г., в результате чего и была выявлена мутация, вызывающая развитие SVM. Носителем и главным источником распространения мутантного аллеля явился элитный бык голштинской породы – Карлин М. Айвенго Белл 1667366 [1, 2]. Он оказал огромное влияние на улучшение молочной продуктивности у черно-пестрого скота не только в Российской Федерации, но и во всем мире.

Данная мутация выявлена у черно-пестрого скота многих стран мира. В гомозиготном состоянии аллель SVM вызывает высокую эмбриональную смертность, массовые аборт, большое число мертворожденных телят. Телята, гомозиготные по аллелю SVM, при рождении имеют множественные анатомические отклонения, затрагивающие шейную и грудную области позвоночника, что проявляется уменьшенным числом ребер и контрактурами конечностей.

Метод молекулярной диагностики этого наследственного заболевания был запатентован датскими учеными, а позднее и в других странах. Начиная с 2007 г., в открытой печати появляются новые методы молекулярно-генетической идентификации SVM [4, 5]. Однако в условиях Российской Федерации они потребовали существенной доработки.

Целью данной работы являлась разработка и внедрение в практику метода выявления аллеля SVM у чёрно-пестрого скота, установление его частоты, анализ родословных быков-носителей данной мутации.

Материалы и методы исследований. Проведено исследование 488 образцов спермы и крови черно-пестрого скота на наличие аллеля SVM. От быков было получено 462 образца и 26 образцов – от коров. ДНК выделяли из образцов спермы быков и венозной крови коров с помощью фенольно-хлороформного

[6] и сорбентного (ДНК-сорб-В, ЗАО «Синтол») методов. RT-PCR (Real-time Polymerase Chain Reaction) проводили на приборе «Rotor Gene Q» («Corbett Research», Австралия). Реакционная смесь имела следующий состав: 50 мМ KCl, 50 мМ TRIS-HCl, 250 нМ dNTP, 2,5 мМ MgCl₂, 2,5 ед. ДНК-полимеразы Syntaq. Праймеры использовали в концентрации 200 нМ, флуоресцентные зонды – в концентрации 100 нМ. Все реактивы произведены компанией «Синтол».

Для детекции мутаций в исследуемом фрагменте генома применялись аллельспецифические зонды. Они были подобраны таким образом, чтобы один из зондов специфически гибридизовался при температуре проведения элонгации цепей с аллелем нормального типа, а второй зонд – с мутантным. Зонды метили разными флуорофорами, а результаты реакции с ними регистрировались при проведении RT-PCR на двух различных каналах детекции прибора «Rotor Gene Q» («Corbett Research», Австралия). После отработки всей методологии и выявления мутантного аллеля формировали генеалогии быков, у которых по результатам RT-PCR был выявлен аллель SVM.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием общепринятых методов, частоту аллелей и генотипов по гену *SLC35A3* определяли с помощью критерия χ^2 [7].

Результаты исследований и их обсуждение. Под генетической генеалогией мы понимаем характеристику родословных, составленную на основе результатов ДНК-тестов и традиционных методов исследования. В первую очередь был проведен анализ спермы черно-пестрого быка Пломбира 998. Бык Пломбир 998 принадлежал племенному хозяйству ОАО «Смоленское». После закупки его семени в регионы Северного Кавказа он был широко использован в популяции черно-пестрой породы, разводимой в условиях двух северокавказских республик – Кабардино-Балкарии и Ингушетии. Несмотря на его известную родословную и отсутствие результатов генетического тестирования на носительство аллелей двух моногенных заболеваний – SVM и VLAD (Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency), сперма этого быка интенсивно использовалась для осеменения коров в племенных хозяйствах двух республик.

Отцом быка Пломбира 998 был Пионер 188. Бык-производитель Пионер 188 принадлежал ОАО ГЦВ из Московской области и являлся сыном Карлин М. Айвенго Белла 1667366. Сам Карлин М. Айвенго Белл 1667366 был сыном Пенстейт Айвенго Стар 1441440, который передал своему сыну два мутантных аллеля, обуславливающих VLAD и SVM. Однако бык Пионер 188 не был тес-тирован на носительство аллелей двух наследственных заболеваний – VLAD и SVM, поскольку он использовался в системе племенной службы СССР, а позднее и Российской Федерации, до разработки методов молекулярной диагностики наследственных аномалий.

Пломбир 998 получил обе мутации от отца Пионера 188. Линия быка Монтвика Чифтейна 95679, куда входит Пионер 188, является одной из консолидированных популяций в голштинской породе. Она дает лучших высокопродуктивных потомков, поэтому при отборе ремонтного молодняка специалисты ОАО ГЦВ всегда используют эту информацию.

Исследование 488 животных черно-пестрого скота из различных регионов Российской Федерации по выявлению аллеля SVM показало, что гетерозиготными носителями мутации являются 10 животных, или 2,0%, а число особей с нормальным генотипом оказалось соответственно равным 478 или 98,0%.

Частота аллеля SVM в исследованной выборке черно-пестрого скота составила 0,01. При этом сравнение ожидаемого и наблюдаемого числа генотипов выявило отсутствие нарушения генетического равновесия по гену *SLC35A3* в исследованной группе животных ($\chi^2=0,11$; $df=1$; $P > 0,05$).

Проведенное исследование показало, что быки Голливуд 64, Бэтман 8694, Спектр 1729, Кубок 1459, Кодек 1452 (Российская Федерация) являются носителями аллеля SVM. Из генеалогического анализа полученных материалов следует, что эти животные были правнуками и праправнуками Карлин М. Айвенго Белла 1667366. Из 5 быков-носителей в племенной сети России были использованы только два – Кубок 1459 и Кодек 1452.

В ряде генетических лабораторий Российской Федерации накоплен большой опыт по молекулярной диагностике дефицита лейкоцитарной адгезии (BLAD) у чистопородных и помесных животных голштинской породы [3, 8, 9]. Полученные данные заносятся в периодически издаваемые каталоги быков. Что же касается комплекса аномалий позвоночника, то проведение молекулярной диагностики SVM в Российской Федерации в течение длительного времени было затруднено в связи с невозможностью приобретения патента на диагностику, разработанного датскими учеными. Создание предложенной методической базы даст возможность удешевить тестирование быков на носительство аллеля SVM в условиях России.

Выводы. RT-PCR метод диагностики аллеля SVM, вызывающего комплекс аномалий позвоночника у крупного рогатого скота, предложен в Российской Федерации. Проведен анализ носительства аллеля SVM у элитных быков и племенных коров. Анализ родословных элитных быков-производителей позволил заложить основы ветеринарно-медицинского консультирования по предупреждению молекулярных болезней на современном этапе разведения молочного скота.

Благодарность. Выражаем благодарность руководству Открытого акционерного общества «Головной центр по воспроизводству сельскохозяйственных животных» (пос. Быково Московской области), руководству Открытого акционерного общества «Кабардино-Балкарское» по воспроизводству и биотехнологиям (г. Нальчик, КБР), оказавшим помощь в сборе биологического материала для проведения научных исследований.

1. *Complex vertebral malformation in Holstein calves* / J.S. Agerholm [et al.] // J. Vet. Diagn. Invest. – 2001. – Vol. 13. – P. 283–289.

2. *Evaluation of the inheritance of the complex vertebral malformation syndrome by breeding studies* / J.S. Agerholm [et al.] // Acta. Vet. Scand. – 2004. – Vol. 45. – P. 133–137.

3. *Identification of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) carriers in Holstein and Braun Swiss AI bulls in Iran / A. Norouzy [et al.] // Genetica. – 2005. – Vol. 41. – N12. – P. 1697–1701.*

4. *Rusc A. Prevalence of complex vertebral malformation carriers among Polish Holstein-Friesian bulls / A. Rusc, S. Kaminski // J. Appl. Genet. – 2007. – Vol. 48. – N 3. – P. 247–252.*

5. *Implication of complex vertebral malformation and bovine leukocyte adhesion deficiency DNA-based Testing on disease frequency in the Holstein population / E. Schutz, M. Scharfenstein, B. Brenig // J. Dairy Sci. – 2008. – Vol. 91. – P. 4854–4859.*

6. *Маниатис Т. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук : пер. с англ. – М.: Мир, 1984. – 322 с.*

7. *Марзанов Н.С. Иммунология и иммуногенетика овец и коз / Марзанов Н.С. – Кишинев: Изд-во «Штиинца», 1991. – 238 с.*

8. *Геногеография BLAD в популяциях черно-пестрого скота России и за рубежом / Н. Марзанов [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. – 2008. – N 4. – P. 2–5.*

9. *Марзанов Н.С. Скрининг гена дефицита лейкоцитарной адгезии у черно-пестрого голштинизированного скота / Н.С. Марзанов [и др.]. – Сельскохозяйственная биология. – 2003. – N 6. – P. 23–30.*

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ДІАГНОСТИКИ МУТАНТНОГО АЛЕЛЯ, ЩО ВИКЛИКАЄ КОМПЛЕКС АНОМАЛІЙ ХРЕБТА (CVM) У ЧОРНО-РЯБОЇ ХУДОБИ

С.Н. Марзанова¹, Д.А. Деврішов¹, І.С. Турбіна¹, В.А. Нагорний¹, Я.І. Алексєєв², Н.В. Коновалова², Д.Г. Сочівко², П.І. Люцканов³, М.Х. Тохов⁴, Н.С. Марзанов⁴

Московська державна академія ветеринарної медицини та біотехнології імені К. І. Скрябіна¹

Державна Наукова Установа Всеросійський науково-дослідний інститут сільськогосподарської біотехнології Россельхозакадемії, Закрите Акціонерне Товариство «Синтол»²

Науково-практичний інститут біотехнологій в зоотехнії та ветеринарної медицини Академії наук Молдови³

Державна Наукова Установа Всеросійський науково-дослідний інститут тваринництва Россельхозакадемії⁴

Наводиться коротка характеристика методу визначення алеля, що викликає комплекс аномалій хребта (CVM) у чорно-рябої худоби, що розводиться в Росії. RT-PCR аналіз зразків сперми і крові 488 тварин з різних регіонів Російської Федерації показав, що гетерозиготними носіями алеля 559T гена SLC35A3 є 10 тварин (2,0%), а кількість особин з нормальним генотипом – 478 або 98,0%. Частота алеля CVM склала 0,01.

Ключові слова: PCR-RT, CVM, велика рогата худоба, алель

USE OF THE TEST SYSTEM FOR THE MUTANT ALLELE CAUSING COMPLEX VERTEBRAL MALFORMATION (CVM) IN BLACK AND WHITE CATTLE

S.N. Marzanova¹, D.A. Devrishov¹, I.S. Turbina¹, V.A. Nagorny¹, Ya.I. Alekseev²,
N.V. Konovalova², D.G. Sochivko², P. I. Liutskanov³, M.Kh. Tokhov⁴, N.S. Marzanov⁴

*The Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after
K.I. Skriabin¹*

*State Scientific Institution All-Russian Scientific Research Institute of Agricultural
Biotechnology, Agricultural Academy of Russia, Closed Joint Stock Company «SINTOL»²
Scientific and Practical Institute of Biotechnology in Animal Husbandry and Veterinary
Medicine, Academy of Sciences of Moldova³*

*State Scientific Institution All-Russian Scientific Research Institute of Animal of
Agricultural Academy of Russia⁴*

The article presents short characteristics of DNA isolation method developments hereditary disease mutant allele ascertainment, particularly a vertebral anomalies complex and CV allele in Black-and-White cattle bred in Russia. Analysis of semen and blood of 488 animals in different regions of the Russian Federation on mutant CV allele ascertainment has shown that heterozygous mutation carriers are 10 animals or 2,0%, and 478 units or 98,0% have appeared to be normal-genotype animals.

Key words: PCR-RT, CVM, cattle, allele



УДК 636.2.082:575.113.1

ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЯК ОБҐРУНТУВАННЯ ШЛЯХІВ ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНОФОНДУ СВИНЕЙ МИРГОРОДСЬКОЇ ПОРОДИ

О.І. МЕТЛИЦЬКА¹, В.Ю. НОР²

Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)¹

Інститут свинарства і АПВ НААН (Полтава, Україна)²

metlitska@mail.ru, maestropoltava@rambler.ru

Проведено популяційно-генетичний аналіз свиней миргородської породи із застосуванням сучасних ДНК-технологій. За використання ISSR-праймерів визначено

© О.І. Метлицька, В.Ю. Нор, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

породоспецифічні маркери розміром 3500 та 460 п.н. Існування спільного фрагмента розміром 370 п.н. у тварин порід миргородська і п'єтрен може бути свідченням метизації локальної української породи. Вплив генотипу іншої породи на структуру популяції миргородських свиней підтверджується від'ємним значенням коефіцієнта фіксації для особин досліджуваної вибірки, який становив ($-0,692$) за поліморфним сайтом *PLIN2* (g.7966T>C) гена периліпіну. Наявність поліморфізму гена *PLIN* у популяції свиней миргородської породи та висока частота розповсюдження алелів, асоційованих зі зниженою осаленістю туш, створюють передумови для використання цього маркера у селекційних програмах. Оцінювання напряму генетичних процесів у популяції свиней миргородської породи є основою наукового обґрунтування стратегій щодо усунення негативних наслідків метизації та раціонального використання генофонду місцевої української породи.

Ключові слова: миргородська порода свиней, ISSR-ПЛР, поліморфізм гена периліпіну, ідентифікаційні маркери породи

Введення. Сучасні тенденції розвитку галузі свинарства, спрямовані на збільшення м'ясної продуктивності, скоростиглості та зниження конверсії корму при збереженні рівня відтворення, є суттєвою загрозою для існування місцевих порід, що не відповідають вимогам ринку, проте характеризуються унікальними адаптаційними властивостями і специфічністю генофонду.

Однією з унікальних локальних порід свиней України вважається миргородська, що наразі перебуває на межі зникнення.

Кожна порода сільськогосподарських тварин є категорією історичною, оскільки з часом змінюються вимоги людини до породних характеристик та рівня продуктивного потенціалу. Аборигенні породи, не зважаючи на наявність надзвичайних пристосувальних можливостей і невибагливості до умов утримання внаслідок їхнього тривалого формування в специфічних екологічних зонах, виявляються неконкурентоспроможними згідно з вимогами сучасної ринкової економіки, а відтак чисельність їх різко скорочується.

Миргородську породу виведено шляхом складного відтворного схрещування місцевих українських чорно-рябих свиней з тваринами беркширської, середньої білої та темворської порід [1], в окремих випадках використовувалося прилиття крові польсько-китайської породи та елементи гібридизації тварин миргородської популяції кнурами великої білої породи за подальшого поглинального схрещування і розведення помісних свиней «у собі» [2]. Ця порода формувалася в жорстких умовах утримання й годівлі, в результаті чого було отримано невибагливі швидкостиглі тварини з високим рівнем резистентності та стійкості до стресових факторів. У 1940 р. масив миргородських свиней був затверджений як нова порода [3].

Миргородську породу свиней розводять методом напіввідкритої популяції при збереженості в чистоті племінного ядра. Для зниження осаленості туш молодняку на відгодівлі використовують систему схрещування цих тварин з представниками м'ясних порід, переважно дюрок, велика біла і п'єтрен. У

системі схрещування і гібридизації та створенні нових порід миргородську використовують як материнську форму. Нині розводять миргородську породу свиней у двох племінних заводах у Полтавській та Волинській областях, де зосереджено 4567 гол., та двох племрепродукторах Хмельницької і Сумської областей – 2511 гол. [2, 3].

Миргородську породу свиней занесено ФАО до унікальних зникаючих генотипів завдяки її природним особливостям. Перш за все, миргородська характеризується значною адаптивністю до місцевих умов утримання та високими технологічними характеристиками м'язової тканини (наявність жирових прошарків між м'язами, вологоутримувальна здатність м'яса після забою). Особливості виробництва традиційних для України продуктів – шпиків, сиров'ялених і сирокочених ковбас – створюють передумови щодо збільшення попиту на свинину високої якості від тварин місцевих порід під маркою національного екобренду [3].

Раціональне використання генофонду миргородських свиней відбувається в рамках Державної селекційної програми. Робота з нечисленними популяціями свиней методами класичної індексної селекції не запобігає негативним ефектам інбридингу, тому вимагає використання додаткової надійної генетичної інформації про рівень мінливості та генетичної схожості особин, призначених для репродукції.

Метою даної роботи є визначення генетичних особливостей миргородських свиней на основі сучасних ДНК-технологій для розробки науково обґрунтованих методів збереження і вдосконалення цієї унікальної місцевої породи.

Матеріали і методи досліджень. У досліді з генетичного моніторингу порід свиней використовували геномну ДНК високого ступеня нативності Банку ДНК Інституту свинарства і АПВ НААН, виділену з венозної крові сольовим методом [4] від типових представників порід і внутріпородних типів: внутріпородного типу великої білої породи свиней (УВБ-1, 40 гол., УВБ-2, 35 гол., УВБ-3, 15 гол.), миргородської (М, 50 гол.), полтавської м'ясної (ПМ, 50 гол.), української м'ясної (УМ, 30 гол.), ландраса (Л, 30 гол.), породи п'єтрен (П, 10 гол.).

Ампліфікацію ДНК-фрагментів у технології ISSR-ПЛР проводили в термоциклері «Терцик» («ДНК-технологія», Росія) за використання праймерів наступної структури (табл. 1).

1. Структура праймерів, використаних для генетичної характеристики свиней

Назва праймерів	Структура праймерів	Температура випалювання
ISSR-S1	3'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC C-5'	57
ISSR-S2	3'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC G-5'	57
ISSR-S5	3'-ATG ATG ATG ATG ATG ATG C-5'	57
ISSR-UBC 873	3'- GAC AGA CAG ACA GAC A-5'	60

Електрофоретичне розділення отриманих ампліконів виконували в 1×TBE буфері на 1,5%-х агарозних гелях [5] із наступним забарвленням розчином бромистого етидію. Контроль за розміром ДНК-фрагментів здійснювали за допомогою маркера молекулярної маси DNA-Ladder plus («Fermentas», Литва). Основні популяційно-генетичні параметри розраховували за використання пакета стандартних спеціалізованих комп'ютерних програм, призначених для аналізу полілокусних маркерів із множинною локалізацією в геномі: GELSTAT [6] і TREES [7].

Для ДНК-типуння тварин за локусами *PLIN1* та *PLIN2* гена *PLW* використовували метод ПЛР-ПДРФ. ПЛР проводили у стандартній реакційній суміші (Tarotili, Росія) на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-технологія», Росія) за програмою:

95°C – 2 хв; 30 цикл.: 95°C – 20 с; 58°C – 20 с; 68°C – 20 с; 68°C – 7 хв для локусу *PLIN1* та 95°C – 2 хв; 30 цикл.: 95°C – 20 с; 64°C – 20 с; 68°C – 20 с; 68°C – 7 хв для локусу *PLIN2* (табл. 2).

2. Структура праймерів для синтезу поліморфних ділянок гена *PLIN* [8]

Назва праймерів	Структура праймерів	Температура випалювання
PLIN1 Forward	5' - CCA GAA GAC CTA CAC CAG CAC - 3'	58°C
PLIN1 Reverse	5' - TCT GGA TGC CCT TCT CGT AA - 3'	58°C
PLIN2 Forward	5' - GAT CTG CTC TCC TTC CCT CC - 3'	64°C, 68°C
PLIN2 Reverse	5' - CTG TTT CAG AGC GCG AGA C - 3'	64°C, 68°C

У результаті ПЛР синтезували фрагменти локусів *PLIN1* розміром 80 п.н. і *PLIN2* розміром 175 п.н., які гідролізували ферментами рестрикції *Hin1I* та *NlaIV* відповідно, за умовами згідно з рекомендаціями виробника («Fermentas», Литва). У результаті реакції рестрикції отримували фрагменти ДНК, які відповідають певним генотипам (табл. 3).

3. Фрагменти рестрикції і відповідні їм генотипи за локусами *PLIN1* та *PLIN2*

Локус/фермент рестрикції	Генотипи і відповідні фрагменти рестрикції, п.н.		
<i>PLIN1</i> / <i>Hin1I</i>	AA: 80	AG: 80, 44, 36	GG: 44, 36
<i>PLIN2</i> / <i>NlaIV</i>	TT: 175	CT: 175, 115, 60	CC: 115, 60

Примітка. п.н. – пар нуклеотидів.

Аналіз фрагментів рестрикції виконували за допомогою електрофорезу у 8%-му поліакриламідному гелі з використанням маркерів молекулярної маси (*pBR322/BsuR1*). Візуалізацію виконували після фарбування поліакриламідного гелю розчином бромистого етидію в ультрафіолетовому світлі на транслюмінаторі.

Статистичний аналіз даних виконували за допомогою загальноприйнятих методів з використанням стандартної комп'ютерної програми GenAlex 6.0 [9].

Результати досліджень, їхнє обговорення. Обмеженість біотехнологій, спрямованих на збереження генофондів локальних порід у їхньому природному ареалі, вимагає пошуку сучасних методологічних підходів до комплексного популяційно-генетичного моніторингу тварин з метою розробки ефективних та економічно виправданих прийомів на основі отриманих даних генетичного аналізу [10,11].

Тривалий час у тваринництві України генотипування тварин з метою встановлення оптимального варіанта підбору та додаткових критеріїв контролю спрямованості селекційних процесів проводили за використання груп крові [12], що дало змогу накопичувати інформацію про динаміку змін популяцій. Проте економічні вимоги сьогодення спрямовані на пошук сучасних малозатратних і зручних методик генетичного аналізу сільськогосподарських тварин на молекулярному рівні.

Вважаємо, що таким вимогам відповідають системи фінгерпринтного аналізу, а саме технологія ISSR (Inter Simple Sequence Repeat).

Обґрунтовано доцільність використання праймерів S1, S2, S5 та UBC 875 для індивідуальної оцінки генетичної мінливості свиней, а також вирішення важливого питання генетичної паспортизації – встановлення унікальних ДНК-фрагментів, властивих лише представникам певної породи. Виявлення таких унікальних ДНК-фрагментів (абсолютних маркерів) у свиней миргородської породи було проблематичним унаслідок використання в процесі філогенезу плідників інших порід для «освіження» крові і покращання технологічних та забійних ознак, що призводить до знищення унікальної генетичної структури та негативно впливає на адаптивні функції, зумовлюючи генетичну схильність до захворювань. Однак тривале розведення племінних тварин «у собі» за жорсткого бракування особин, що не відповідають модельному типу породи, дають можливість отримати популяції з мінімальним рівнем чужорідного генетичного матеріалу і виявити їхні певні особливості на рівні ДНК-аналізу. Таким вимогам відповідав масив свиней, що належали племзаводу ім. Декабристів, тому для своїх досліджень ми використовували тварин даного стада.

За генетичною системою ISSR-S1 був виявлений унікальний ДНК-фрагмент розміром 3500 пар нуклеотидів, притаманний лише тваринам миргородської породи (табл. 4).

Використання праймера S1 також дало змогу ідентифікувати два амплікони розміром 1920 та 660 п.н. у тварин миргородської породи, проте означені фрагменти було ідентифіковано і у великої білої породи, що, безперечно, пояснюється існуванням спільних предків у свиней досліджених популяцій і є підтвердженням історичних даних особливостей їхньої селекції. Тривожним фактом виявилось існування спільного фрагмента розміром 370 п.н. у тварин миргородської і породи п'єтрен, що може бути свідченням наслідків метизації

локальної української породи п'єтренами, які зазвичай використовуються для підвищення м'ясних якостей і конверсії корму молодняка на відгодівлі.

4. Маркерні ДНК-фрагменти порід свиней, найбільш розповсюджених на території України

Маркерна система	Розмір маркерного ДНК-фрагмента, п.н.	Популяція
ISSR-S1 3'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC C-5'	3500 1920 660 370	М УВБ 1,2,3, М УВБ-1, УВБ-2,М М, П
ISSR-S2 3'-AGC AGC AGC AGC AGC AGC G-5'	1170 460	УВБ-1, М М
ISSR-S5 3'-ATG ATG ATG ATG ATG ATG C-5'	450	УВБ-1, М
ISSR-UBC 875 3'- GAC AGA CAG ACA GAC A-5'	1300 300	ПМ, УМ, Л, П УВБ-3, ПМ, Л

Примітка. М – миргородська порода свиней; УВБ-1, 2, 3 – внутріпородні типи великої білої породи свиней місцевої селекції; ПМ – полтавська м'ясна; Л – ланд-рас; УМ – українська м'ясна; П – п'єтрен.

Праймер ISSR-S2 дав можливість виявити ще один ідентифікаційний ДНК-маркер миргородської породи, розмір якого становив 460 п.н.

Ідентичні за встановленими розмірами ДНК-фрагменти у 1170 п.н. зафіксовано у особин миргородської породи та внутріпородного типу УВБ-1, який відселекціонований, як і миргородські свині, у напрямку покращання відтворних ознак. Генетична система, побудована на основі використання тетра-нуклеотидного праймера ISSR-UBC 875, виявилася неінформативною щодо визначення генетичних особливостей миргородських свиней, проте дала змогу встановити амплікони, властиві представникам порід м'ясного напрямку продуктивності.

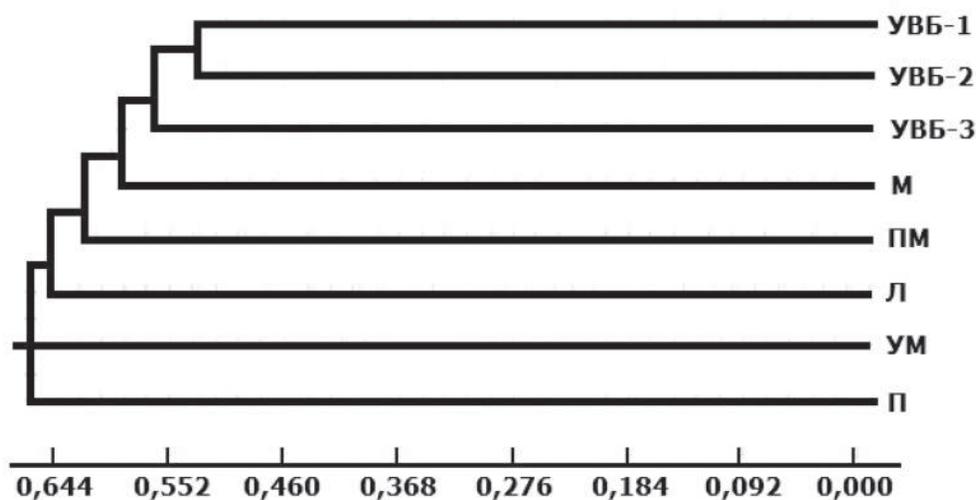
За результатами кластерного аналізу з визначених генетичних дистанцій, розрахованих після проведення генетичного тестування в технології ISSR, побудовано дендрограми, що дали можливість наочно оцінити ступінь генетичної диференціації та історичних зв'язків порівнюваних порід (рисунок).

Структуру дендрограми склав єдиний кластер, сформований переважно тваринами місцевої селекції, за винятком неспорідненої породи п'єтрен.

Положення миргородської породи всередині кластера місцевих порід пояснюється наявністю історичних зв'язків між зазначеними породами та наявністю подібних генетичних комплексів.

Максимальну генетичну дистанцію зафіксовано між миргородською та внутріпородним типом УВБ-1 (0,432), а мінімальну – між миргородською та полтавською м'ясною. Останню було створено за використання миргородської

породи як материнської вихідної форми, що і забезпечило таке розташування кластерних гілок.



Дендрограма, побудована на основі даних ISSR-типуювання свиней різних порід і популяцій методом UPGMA

Головним недоліком миргородської породи, порівняно з комерційними, вважається надмірна осаленість туш: товщина шпику у підсвинків на відгодівлі сягає 3,5–3,8 мм на рівні 6–7-го хребців, а співвідношення м'ясо : сало становить 1:1,3 [13].

Перспективним підходом для підвищення м'ясних і відгодівельних ознак свиней є використання інформації щодо поліморфізму локусів кількісних ознак [14] при побудові селекційних індексів.

Зарубіжними дослідниками для свиней порід ландрас, дюрок, гемпшир та велика біла було показано вірогідні асоціації між певними генотипами за поліморфними варіантами гена периліпіну й відгодівельними та забійними ознаками. Зазначений зв'язок встановлено для двох сайтів гена периліпіну: *PLIN1* (g.4119A>G) та *PLIN2* (g.7966T>C). Найбільш бажаними генотипами при селекції на м'ясність і збільшення середньодобового приросту є ААТТ, для отримання пісного м'яса в туші зі зменшеною товщиною шпику – АГТС. Небажаними для відбору вважаються тварини з генотипом GGCC [8]. Виявлені закономірності підтверджено нами для свиней великої білої породи місцевої селекції (дані не опубліковано).

Оскільки інформація щодо поліморфізму цих варіантів гена периліпіну може бути використана в селекційних програмах удосконалення миргородської породи, метою наступного етапу досліджень було оцінювання популяційно-генетичних параметрів цих тварин порівняно з такими самими показниками найбільш розповсюдженої великої білої породи та її помісей для встановлення можливості використання *PLIN*-типуювання в селекційному процесі.

Розподіл частот алелів за локусом *PLIN1* у трьох досліджених популяціях суттєво різнився (табл. 2). Популяція свиней великої білої породи більш насичена алелем G (0,587), тоді як тварини миргородської породи є переважно

носіями алеля А (0,591), частка алеля G (0,273) у помісних тварин менша, ніж у тварин інших двох досліджених популяцій, що може бути пов'язано із впливом на генетичну структуру помісних тварин кнурів спеціалізованої м'ясної породи ландрас та ефектом міжпородного гетерозису.

Аналіз характеру розподілу частот алелів за локусом *PLIN2* показав, що популяції свиней великої білої породи та помісних тварин характеризуються високою частотою алеля С (0,620 і 0,773).

5. Популяційно-генетична характеристика свиней за поліморфізмами *PLIN1* та *PLIN2* гена периліпіну

Популяція свиней	Частоти алелів		Частоти генотипів			Гетерозиготність		Фіксаційний індекс
Велика біла порода	<i>PLIN1 (g.4119A>G)</i>							
	A	G	AA	AG	GG	H _o	H _e	F
	0,413	0,587	0,171	0,485	0,345***	0,217	0,485	0,552
	<i>PLIN2 (g.7966T>C)</i>							
	C	T	CC	CT	TT	H _o	H _e	F
	0,620	0,380	0,384	0,471	0,145	0,283	0,471	0,401
Помісі велика біла×ландрас	<i>PLIN1 (g.4119A>G)</i>							
	A	G	AA	AG	GG	H _o	H _e	F
	0,727	0,273	0,529	0,397	0,074**	0,545	0,397	-0,375
	<i>PLIN2 (g.7966T>C)</i>							
	C	T	CC	CT	TT	H _o	H _e	F
	0,773	0,227	0,597	0,351	0,052	0,273	0,351	0,224
Миргородська порода	<i>PLIN1 (g.4119A>G)</i>							
	A	G	AA	AG	GG	H _o	H _e	F
	0,591	0,409	0,349	0,483	0,167	0,455	0,483	0,060
	<i>PLIN2 (g.7966T>C)</i>							
	C	T	CC	CT	TT	H _o	H _e	F
	0,591	0,409	0,349	0,483	0,167*	0,818	0,483	-0,692

Примітка. H_o – спостережена гетерозиготність; H_e – очікувана гетерозиготність; F – індекс фіксації Райта; * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

Особливістю розподілу частот алелів у тварин миргородської породи є їхня збалансованість (С – 0,591, Т – 0,409). Суттєвий вплив генотипу іншої породи на структуру популяції свиней миргородської підтверджується від'ємним значенням фіксаційного коефіцієнта, що для особин досліджуваної вибірки становив -0,692 за поліморфним сайтом *PLIN2 (g.7966T>C)* гена периліпіну.

У популяціях свиней великої білої породи та помісей велика біла×ландрас за локусом *PLIN1* і у тварин миргородської породи за поліморфізмом *PLIN2* виявлено достовірне відхилення фактичного розподілу генотипів від очікува-

ного за законом Харді-Вайнберга. Показано, що частка небажаних генотипів GGTT найнижча у популяції помісних свиней (GG – 0,074, TT – 0,052). У тварин породи велика біла частота генотипу GG (0,345) ($P < 0,001$) виявилася найвищою серед досліджених популяцій. У свиней миргородської породи та помісних тварин знайдено суттєві міжлокусні відмінності у показниках фактичної і очікуваної гетерозиготності в межах однієї популяції, що, очевидно, є наслідком нерівноваги за зчепленням цих локусів відносно генів кількісних ознак. Відносно прогнозу ефективності заходів маркерної селекції свиней, спрямованої на зниження осаленості туш та підвищення інтенсивності росту за генотипами гена периліпіну, згідно з даними популяційно-генетичного аналізу стійкого і тривалого ефекту зв'язку генотипу з бажаною ознакою можна очікувати в стадах лише великої білої породи через наявність помірного інбридингу мікропопуляцій (фіксаційні індекси за локусами *PLIN1* та *PLIN2* були 0,552 і 0,401 відповідно) та утворення стійких генних комплексів.

Отже, серед найбільш глобальних проблем сучасності збереження біорізноманіття викликає найбільшу тривогу у зв'язку із різким скороченням чисельності багатьох видів рослин і тварин. Щодо об'єктів сільськогосподарського призначення, ця негативна тенденція стосується здебільшого місцевих аборигенних популяцій, які виявляються неконкурентоспроможними в умовах масової індустріалізації вітчизняного ринку, масового завезення генетично модифікованих сортів рослин із нокаутованими генами подальшої вегетації і тварин зарубіжної селекції невідомої породності та походження, з вадами екстер'єру і конституції, носіями прихованих інфекційних захворювань. Таким чином, виникає реальна загроза скорочення власних генетичних ресурсів сільськогосподарських видів, залежність від імпорту сировини для виробництва продуктів харчування, масове розповсюдження особин, не адаптованих до місцевих кліматичних, екологічних і технологічних умов.

Основоположником ґрунтовної наукової концепції щодо необхідності збереження біорізноманітності рослин і тварин, сучасних уявлень про центри їхньої доместикації та зародження аграрної цивілізації є М.І. Вавилов [15], який наголошував на необхідності мобілізації генетичних ресурсів для селекційних потреб. Кожен біологічний вид сільськогосподарського призначення повинен розглядатися в ракурсі константної компоненти агрокосистем, оскільки стабільність їхнього відтворення пов'язана безпосередньо з генетично зумовленим потенціалом адаптації до умов навколишнього середовища [16, 17].

Головною проблемою збереження генофондів є не тільки утримання чисельності породної різноманітності та ефективного розміру популяцій, але й розробка наукових підходів до підтримання внутріпородної генетичної гетерогенності для запобігання ерозії унікального алельного спектра кожної породи. Дослідження шляхів підтримання генетичної різноманітності, популяризація у світовому масштабі важливості збереження біоресурсів є прерогативою міжнародної продовольчої та сільськогосподарської організації (FAO), створеної при Організації Об'єднаних Націй, що виконує систематизацію інформації про генетичну специфіку свійських тварин [18].

У даній роботі було показано, що використання двох класів — ISSR маркерів у технології міжмікросателітного аналізу та одноклеотидних поліморфізмів (SNP) у ПЛР-ПДРФ аналізі поряд з ідентифікацією унікальних генних комплексів місцевої миргородської породи дало змогу встановити ознаки її метизації тваринами спеціалізованих м'ясних порід, що створює суттєву загрозу втрати її генофонду.

На жаль, на основі діючих морфологічних критеріїв стандарту породи, як основного засобу контролю генеалогії, без підтвердження походження племінних тварин методами імуногенетичного або ДНК-аналізу відрізнити чистопородних свиней від кросбредних практично неможливо. Це призводить до появи у провідних стадах з розведення миргородської породи помісей іншого походження, втрати адаптивних властивостей і значного зниження якості м'ясної продукції від таких тварин. Навіть за умов використання високополіморфних полілокусних генетичних систем ISSR вдалося ідентифікувати лише незначну кількість породоспецифічних ДНК-фрагментів миргородської породи. Це пов'язано з відсутністю інбредних еталонних популяцій генетично однорідних свиней різних порід, у тому числі й миргородських свиней.

Аналогічна ситуація спостерігалася свого часу в Іспанії, де під загрозою повного знищення опинилася іберійська порода свиней. Унаслідок кросування цих тварин з комерційною породою дюрок виготовлення якісного національного продукту хамон виявилось неможливим від отриманих помісей. Лише завдяки збереженню невеликої інбредної популяції іберійських свиней та застосуванню молекулярно-генетичних підходів, що є різновидами ПЛР (RAPD, AFLP, STR), стало можливим виявлення алелів, властивих тваринам породи дюрок, та елімінація їхніх носіїв із стад аборигенної породи [19].

Висновки. Отримані дані є спробою оцінювання генетичної ситуації в популяції свиней миргородської породи, впровадження методології ідентифікації чистопородних тварин, використання маркер-асоційованої селекції в стадах для зниження осаленості туш без використання міжпородних схрещувань.

Розробка та впровадження методів молекулярно-генетичної паспортизації племінних тварин необхідні не лише для ефективної племінної роботи з нечисленними породами, але і для оцінювання біологічного матеріалу, призначеного для довготривалого збереження в кріобанках генетичних ресурсів.

Подяка. Авторський колектив висловлює щиру подяку завідувачу відділу селекції і генетики Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН кандидату біологічних наук К.Ф. Почерняєву за надану можливість виконання всього обсягу лабораторних робіт та використання Банку ДНК свиней різних порід для проведення порівняльного молекулярно-генетичного аналізу; директору племзаводу ім. Декабристів Миргородського району Полтавської області В.Г. Цибенко за можливість отримання біологічного матеріалу від тварин миргородської породи та надану інформацію щодо їхньої генеалогії; співробітникам лабораторії генетики Хоенхаймського університету (Німеччина) за надання зразків ліофілізованої ДНК свиней породи п'єтрен.

1. *Генофонд* свійських тварин України: навч. посібник / Д.І. Барановський [та ін.]; за ред. проф. Д.І. Барановського та В.І. Герасимова. – Харків: Еспада, 2005. – 400 с.
2. *Світовий* генофонд свиней: монографія / В.І. Герасимов [та ін.]; за ред. В.І. Герасимова, М.Д. Березовського та В.М. Нагаєвича. – Харків: Еспада. – 2006. – 520 с.
3. *Войтенко С.Л.* Історія створення та напрям селекції з миргородською породою свиней / Войтенко С.Л. // Ефективне птахівництво та тваринництво. – 2004. – № 10. – С. 69–71.
4. *Соколов Б.П.* Выделение высокомолекулярной эукариотической ДНК с использованием ацетата калия/ Б.П. Соколов, В.В. Джемелинский // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 1989. – № 6. – С. 45–46.
5. *Маниатис Т.* Молекулярное клонирование; пер. с англ.; под ред. А.А. Баева / Т. Маниатис, Э. Фрич, Д. Сэмбрук. – М.: Мир, 1984. – 479 с.
6. *Rogstad S.* GELSTATS: a computer program for population genetics analyses using VNTR multilocus probe data/ S. Rogstad, S. Pelican // Bio. Techniques. – 1996. – V. 21, № 6. – P. 187–196.
7. *Компьютерная* программа для построения эволюционных деревьев на основе электрофореграмм ДНК и белков : материалы конф. «Молекулярно-генетические маркеры и селекция растений» / Р.Н. Календарь // – К., 1994. – С. 25–26.
8. *Vykoukalová Z.* Porcine perilipin (PLIN) gene: Structure, polymorphism and association study in Large White pigs/ Z. Vykoukalová, A. Knoll, S. Šepica // Czech J. Anim. Sci. – 2009. – V. 54, № 8. – P. 359–364.
9. *Peakall R.* GENAIEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / Peakall R. // Molecular Ecology Notes. – 2006. – V. 6. – P. 288–295.
10. *Эрнст Л.К.* Генетические основы селекции сельскохозяйственных животных/ Эрнст Л.К. – М.: РАСХН, ВГНИИ животноводства, 2004. – 736 с.
11. *Генетические* ресурсы сельскохозяйственных животных: редкие и исчезающие породы / И.Г. Моисеева [и др.]. – М.: Наука, 1992. – 136 с.
12. *Тихонов В.Н.* Мониторинг микроэволюции и пороодообразования свиней на основе молекулярно-иммуногенетического анализа / В.Н. Тихонов, В.Е.Бобович // С.-х. биология, 2004. – № 3. – С. 10–28.
13. *Бірта Г.О.* Влияние генотипа на мясные качества свиней/ Г.О. Бірта, Ю.Г. Бургу // Вісник Полтавської держ. аграр. академії. – 2012. – № 1. – С. 212–214.
14. *Additive* effects of 19 porcine SNPs on growth rate, meat content and selection index/ S. Kamicki [et al.] // J. Appl. Genet. – 2009. – V. 50. – № 3. – P. 235–243.
15. *Вавилов Н.И.* Избр. тр. Проблемы происхождения, географии, генетики, селекции растений и агрономии / Вавилов Н.И. – М.: Наука, 1965. – Т. 5. – С. 462–473.
16. *Сравнительный* анализ изменчивости различных генетико-биохимических систем у сельскохозяйственных животных / В. И. Глазко [и др.] // Цитология и генетика. – 1992. – № 3. – С. 40–48.

17. Лебедева Н.В. Измерение и оценка биологического разнообразия / Лебедева Н.В. — Ростов Н/Д:УПЛ РГУ, 1999. — Ч. 2. — 94 с.

18. <http://dad.fao.org>.

19. Ovílo C. Application of molecular markers (RAPD, AFLP and Microsatellites) to Iberian pig genotype characterization / C. Ovílo, M.C. Barragan, C. Castellanos // Tradition and innovation in Mediterranean pig production. — Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, 2000. — P. 79–84.

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КАК ОБОСНОВАНИЕ МЕРОПРИЯТИЙ, НАПРАВЛЕННЫХ НА СОХРАНЕНИЕ ГЕНОФОНДА СВИНЕЙ МИРГОРОДСКОЙ ПОРОДЫ

Е.И. Метлицкая, В.Ю. Нор

Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)

*Проведен популяционно-генетический анализ свиней миргородской породы с использованием современных ДНК-технологий. С помощью ISSR-праймеров определены породоспецифические маркеры размером 3500 и 460 п.н. Наличие общего фрагмента размером 370 п.н. у животных пород миргородская и пьетрен может быть свидетельством метизации локальной украинской породы. Влияние генотипа другой породы на структуру популяции миргородских свиней подтверждается отрицательным значением коэффициента фиксации, который для особей исследованной выборки составил $(-0,692)$ по полиморфному сайту *PLIN2* (g.7966T>C) гена перилипина. Наличие полиморфизма гена *PLIN* в популяции свиней миргородской породы и высокая частота аллелей, ассоциированных со сниженной осаленностью туши, определяют возможность использования этого маркера в селекционных программах. Оценка направления генетических процессов в стадах свиней миргородской породы является основой научного обоснования стратегий устранения негативных последствий метизации и рационального использования генофонда местной украинской породы.*

Ключевые слова: миргородская порода свиней, ISSR-ПЦР, полиморфизм гена перилипина, идентификационные маркеры породы

POPULATION-AND-GENETIC GROUNDING OF MEASURES AIMED AT MIRGOROD BREED OF PIGS GENE POOL PRESERVING

E.I. Metlitskaya, V.Y. Nor

Institute of Animal Breeding and Genetics, NAAS (Chubinskoe, Ukraine)

*The population and genetic analysis of pigs of Mirgorod breed with use of modern DNA technologies is carried out. Use of ISSR primers in PCR defined specific for breed markers of 3500 and 460 p.n. size. Existence of the common fragment of 370 p.n. size at Pietrain and Mirgorod pigs can be the identification of consequences of local Ukrainian breed metization. Influence of the genotype of other breed on structure of Mirgorod pigs' population is confirmed with negative value of fixing coefficient which for animals of the studied selection was $(-0,692)$ on polymorphic site *PLIN2* (g.7966T>C) of perilipin's gene. Existence of polymorphism of*

a PLIN gene in pigs of Mirgorod breed population and high frequency of alleles, which are associated with lowered obesity, define the possibility of this marker use in selection programs. Evaluation of the genetic situation in herds of Mirgorod pigs is an important foundation of evidence-based strategies to eliminate the negative effects of cross-breeding and rational management of the gene pool of the local Ukrainian breed.

Key words: mirgorod breed of pigs, ISSR-PCR, perilipin's gene polymorphism, identification markers of breed



УДК 636.2.082:575.113.1

АНАЛІЗ ДАНИХ СВІТОВОГО ГЕНЕТИЧНОГО БАНКУ: ОДНОНУКЛЕОТИДНІ ПОЛІМОРФІЗМИ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО ГЕНОМУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ПОРІД ШАРОЛЕ ТА ЛІМУЗИН

Ю.В. ПОДОБА

*Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)
yurpo@ukr.net*

*Проведено порівняльний аналіз послідовностей мітохондріального геному великої рогатої худоби порід шароле та лімузин (*Bos taurus*) із Світового генетичного банку. Аналіз доступних 29 сиквенсів мітохондріальної ДНК (мтДНК) породи шароле та 27 сиквенсів мтДНК породи лімузин дав можливість розподілити їх за приналежністю до європейської та африканської гаплогруп за походженням мітохондріального геному. Серед проаналізованих послідовностей гіперваріабельного району виявлено два ідентичні гаплотипи мтДНК у чотирьох тварин породи шароле та двох тварин породи лімузин, які за схожістю однонуклеотидних замін у гіперваріабельному районі мтДНК, ймовірно, мають родинний зв'язок за материнською лінією.*

Ключові слова: *Bos taurus*, порода, шароле, лімузин, мтДНК, гаплогрупа, SNP

© Ю.В. Подоба, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

Введення. Реалізація програм збереження генофонду тварин передбачає розробку і застосування системи генетичного моніторингу, за допомогою якого відстежують межі внутріпопуляційних генних потоків [1, 2]. При збереженні генетичного різноманіття основне завдання полягає в тому, щоб не втратити специфічні генні комплекси, які зумовлюють фенотипічні породні та індивідуальні характеристики, пов'язані з екстер'єрними особливостями, продуктивністю, життєздатністю, резистентністю тварин [3].

Як об'єкт контролю при збереженні порід різних видів сільськогосподарських тварин виступає внутрішньо- і міжпородна генетична різноманітність, здійснюються оцінювання та прогнозування її динаміки, визначаються оптимум і межі допустимих змін. Генетичний поліморфізм структурних генів, полілокусних послідовностей ДНК, хромосомних і геномних мутацій характеризує генетичну структуру породи, що береться за основу при збереженні генофонду рідкісних та зникаючих порід [3].

В останні роки в пошуках поліморфних молекулярно-генетичних маркерів все ширше стала використовуватися мітохондріальна ДНК (мтДНК). Поліморфні варіанти мтДНК можуть бути основою для оцінювання ролі цитоплазматичного фактора у формуванні продуктивних характеристик. Гаплоїдність і материнський характер успадкування у поєднанні з наявністю високополіморфних ділянок надають унікальну можливість використання поліморфізму мтДНК для генетичної ідентифікації особин у рамках материнських родин на основі подібності гаплотипу будь-яких родичів за материнською лінією [4–6]. Індивідууми всередині виду, що походять від різних матерів, є генетично ізольованими один від одного щодо мтДНК, навіть у тому разі, коли вони є членами перехресшуваних популяцій [7].

Мітохондріальний геном великої рогатої худоби представлений кільцевою дволанцюговою ДНК розміром 16337–16341 п.н. У ссавців мітохондріальна ДНК (мтДНК) становить 1% сумарної ДНК і кодує дві субодиниці рибосомальної РНК, 22 транспортні РНК і до 30 мітохондріальних білків, переважно ферментів окисного фосфорилування дихального циклу. МтДНК має некодуючу послідовність приблизно 910 п.н., так звану D-петлю (D-loop), яка розміщена між генами тРНК фенілаланіну та проліну і контролює реплікацію мтДНК [4, 15]. МтДНК має унікальні властивості: суворе успадкування за материнською лінією, високу швидкість накопичення мутацій і відсутність рекомбінацій, велику кількість копій молекул мтДНК у клітинах, що дає можливість використовувати дані про поліморфізм мтДНК для філогенетичного аналізу, дослідження з походження і підтвердження батьківства за материнською лінією, маркірування породних і внутрішньопородних особливостей тварин [8].

Гіперваріабельний регіон D-петлі, який виконує регуляторні функції, є найбільш оптимальною ділянкою пошуку. Інтерес дослідників у сфері популяційної та еволюційної генетики до цього регіону мтДНК обумовлений, насамперед, високою швидкістю накопичення мутацій, унаслідок чого є можливість пошуку специфічних маркерів материнських ліній мтДНК для дослідження питань походження і диференціації популяцій тварин [4, 6–14].

Безперечний інтерес подібні дослідження представляють з огляду на те, що відомості про різноманітність порід великої рогатої худоби України за мтДНК в літературі відсутні. Тому метою даної роботи був аналіз послідовностей мітохондріального геному тварин шаролезької та лімузинської порід великої рогатої худоби різного географічного походження для подальшого порівняння з іншими породами, у тому числі українськими аборигенними породами.

Матеріали і методика досліджень. Секвеновані послідовності мітохондріальної ДНК великої рогатої худоби (*Bos taurus*) від 29 тварин породи шароле та 27 тварин породи лімузин було отримано у вільному доступі із Світового генетичного банку (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>).

Локальне вирівнювання послідовностей мітохондріального геному для різних порід великої рогатої худоби проводили з використанням програми MEGA 4.0. Для виявлення нуклеотидних замін використали сиквенс мітохондріальної ДНК *Bos taurus* герфордської породи [15] як референтний (номер доступу V00645).

Результати досліджень та їхнє обговорення. Проведено вирівнювання та аналіз послідовностей мітохондріального геному для різних порід великої рогатої худоби (*Bos taurus*) із Світового генетичного банку. Найбільша кількість однонуклеотидних замін (переважно транзиції) спостерігається у гіперваріабельних районах некодуючої послідовності. В результаті вирівнювання доступних сиквенсів мтДНК різних порід великої рогатої худоби встановлено однонуклеотидні заміни (транзиції, транзакції, делеції), що характеризують належність мітохондріальної ДНК тварини до визначених гаплогруп, а також надають можливість за мтДНК провести диференціацію тварин у межах досліджених порід (рис. 1). Із представлених сиквенсів мтДНК дві тварини ангуської породи – AY676867 і AY676869 – мають ідентичну послідовність мтДНК, що може свідчити про їхній родинний зв'язок за материнською лінією. Решта проаналізованих тварин різних порід відрізняються одна від одної мінімум однією нуклеотидною заміною.

```

[
[
11 1233344555 5778899999 0001222222 2333334455 5566666666 5666666666
[
1111333801 4535879145 7091901677 3579001278 9336790822 5500000111 111122223]
[
0667566193 8425850678 3037224938 9840266430 3189707518 1835779012 334414461]
[
5693457457 5412309491 8297482076 3497966269 1827871551 8700073174 093940141]
#Bos_taurus_V00654.1(2) TAAAC-CCGG GCTTTTGGG TGGTCTCGGG CGGTTTTCGG AACGCCAGG CGGTATGTT TTTTCCSTG
#Ukrainian_grey_GQ129208.1 ..G-... ..A.....TC... ..C... ..C..... ..C..... ..C.....
#Hungarian_Grey_GQ129207.1 ..G...CG... ..A...C... ..C... ..C... ..C..... ..C..... ..C.....
#Holstein-Friesian_DQ124418.1 ..-... ..A..... ..C... ..C... ..C..... T...C...A... ..C.....
#Holstein-Friesian_DQ124417.1 ..-... ..A..... ..C.T... ..C... ..C..... ..C...A... ..C.....
#Holstein-Friesian_DQ124416.1 ..G..C-... ..A.....A ..C... ..C... ..C... ..T... ..C.....
#Holstein-Friesian_DQ124414.1 ..G..C-... ..A.....C. ..C... ..T... ..C... ..A... ..G.....
#Holstein-Friesian_DQ124412.1 ..G..-... ..A..... ..C... ..C... ..C..... T...C...A.C ..C.....A
#Holstein-Friesian_DQ124411.1 C...-... ..A.C..... ..C... ..A..... ..C..... ..C..... ..C.....
#Holstein-Friesian_DQ124409.1 ..G..C-... ..A..... ..C.C.C... T.....A... ..C..... ..C.....
#Angus_AY676873.1 ..G..G-... ..A..... ..T...C... ..C... ..C..... ..A..... ..C.C.....
#Angus_AY676872.1 ..-... ..A...C... ..C... ..A...C... ..C... ..T... ..C.....
#Angus_AY676871.1 ..G..C-... ..A.....A... ..C... ..C... ..C... ..A.T... ..C.....A
#Angus_AY676870.1 C.G.-... ..A..... ..A...C... ..C... ..C..... TCT...T... ..C.....C...
#Angus_AY676869.1 ..G..GT... ..A...C.C... ..C... ..C... ..C..... ..C..... ..C.....TT...
#Angus_AY676868.1 C.G.-G... ..A..... ..A...C... ..C... ..C..... TCT...T... ..C.....C...
#Angus_AY676867.1 ..G..GT... ..A...C.C... ..C... ..C..... ..C..... ..C.....TT...
#Charolais_AY676861.1 ..G..C... ..A.....A... ..C... ..C... ..C... ..A.T... ..C.....
#Charolais_AY676858.1 ..-... ..A...AC..... ..C.A... ..C... ..C... ..T...A... ..G.....
#Limus_in_AY676856.1 ..G..C-... ..A..... ..C..... ..C..... ..C... ..G... ..A..... ..T.....

```

Рис. 1. Однонуклеотидні поліморфізми мітохондріальної ДНК у тварин великої рогатої худоби

Швидкість мутування мтДНК у 5–10 разів вища за ядерну і становить 10^{-9} п.н. за 1 млн років [8]. Дослідження поліморфізму гіперваріабельного регіону D-петлі, який виконує регуляторні функції, надають інформацію для популяційної та еволюційної генетики. Аналіз гіперваріабельної послідовності D-петлі мітохондріальної ДНК (мтДНК) дав можливість встановити два центри доместикації і два диких предки сучасної великої рогатої худоби [6]. Перший розташовується на Близькому Сході, де був одомашнений предок європейської худоби *Bos taurus*. Другий перебуває на території сучасного Пакистану, де був одомашнений зебу *Bos indicus*. За даними філогенетичного аналізу, дикі предки цих двох груп порід великої рогатої худоби розійшлися 200–1000 тис. років тому, тобто задовго до доместикації (8–10 тис. років тому). Всі породи європейської худоби належать до виду *Bos taurus*. Більш детальний аналіз походження європейської худоби (понад 400 тварин 34 порід і археологічні зразки туру) показав, що найбільшу різноманітність типів мтДНК виявлено на Близькому Сході [9]. Автори зробили висновок, що худоба Європи має не місцеве походження, а бере початок від доместикованої в епоху неоліту худоби Близького Сходу. З розповсюдженням худоби з центру походження на північний захід генофонд популяцій збіднюється.

Нині у світовій літературі щодо великої рогатої худоби описано п'ять мітохондріальних гаплогруп – *Bos taurus* T1, T1a (африканська); T2 (західноазіатська); T3 (європейська), T4 (східноазіатська), T5 (Італія, Ірак); Q (італійські аборигенні породи); AA (Creole), які різняться за характерними для кожної гаплогрупи одонуклеотидними замінами у визначених положеннях послідовності мтДНК [9, 10, 11, 12, 13, 14]. Окремо виділяють гаплогрупу *Bos indicus*.

Аналіз одонуклеотидних замін у гіперваріабельному районі мтДНК тварин породи шароле показав (рис. 2), що серед 29 представлених генотипів три (FJ815863, FJ815861, FJ815858) належать до гаплогрупи T1a африканського походження за мтДНК, для якої характерна заміна T на C в позиції 16255. Тварини FJ815861 та FJ815858 характеризуються однаковими одонуклеотидними замінами в положеннях C16050T, T16113C, T1625C, що може свідчити про їхні родинні зв'язки за материнською лінією. Така подібність спостерігається і для тварин FJ815851 та FJ815849 із заміною T16074C. Виявлено 16 тварин (FJ815862, FJ815860, FJ815852–FJ815854, FJ815850, FJ815848, AF336532, AF336523–AF336530), які за дослідженим гіперваріабельним районом мтДНК ідентичні референтній послідовності мітохондріальної ДНК породи геррефорд (V00654).

Серед 27 генотипів мтДНК великої рогатої худоби породи лімузин (рис. 3) одна тварина (AF336509) має мітохондріальний гаплотип T1a африканського походження (заміна T16255C), решта належать до гаплогрупи T3 європейського походження.

Рис. 2. Однонуклеотидні поліморфізми гіперваріабельного району мтДНК у тварин породи шароле

```

[ 1111111111 11111]
[ 6666666666 66666]
[ 0000011111 12222]
[ 5556712334 80456]
[ 0782432031 50850]
#Bos_taurus_V00654.1 CGCATTTTTT GGCTC
#Bos_taurus_V00654.1(2) .....
#Charolais_AY676861.1 .....C .....
#Charolais_AY676858.1 ...G.....
#Charolais_FJ815863.1_Portugal .C..... A..C.
#Charolais_FJ815862.1_Portugal .....
#Charolais_FJ815861.1_Portugal T....C.... ..C.
#Charolais_FJ815860.1_Portugal .....
#Charolais_FJ815859.1_Portugal .....C. ....
#Charolais_FJ815858.1_Portugal T....C.... ..C.
#Charolais_FJ815857.1_Portugal .A..... .A...
#Charolais_FJ815856.1_Portugal ..T....C....
#Charolais_FJ815855.1_Portugal ..... .A...
#Charolais_FJ815854.1_Portugal .....
#Charolais_FJ815853.1_Portugal .....
#Charolais_FJ815852.1_Portugal .....
#Charolais_FJ815851.1_Portugal ....C.....
#Charolais_FJ815850.1_Portugal .....
#Charolais_FJ815849.1_Portugal ....C.....
#Charolais_FJ815848.1_Portugal .....
#charolais_AF336533.1 .....C.... ..T
#charolais_AF336532.1 .....
#charolais_AF336531.1 ..... ..T..
#charolais_AF336530.1 .....
#charolais_AF336529.1 .....
#charolais_AF336528.1 .....
#charolais_AF336527.1 .....
#charolais_AF336526.1 .....
#charolais_AF336525.1 .....
#charolais_AF336524.1 .....
#charolais_AF336523.1 .....

```

```

[ 1111111111 1111111111 11]
[ 6666666666 6666666666 66]
[ 0000000011 1111112222 22]
[ 4455667811 1268990234 56]
[ 2978784802 3245795917 50]
#Bos_taurus_V00654.1 TCGCATTTACT ATTGG&C&CC TC
#Bos_taurus_V00654.1(2) .....
#Limousin_AY676856.1 .....T.....
#Limousin_FJ815895.1_Portugal .....
#Limousin_FJ815894.1_Portugal .....A.....
#Limousin_FJ815893.1_Portugal .....
#Limousin_FJ815892.1_Portugal .T.....T. ....
#Limousin_FJ815891.1_Portugal .....CC....
#Limousin_FJ815890.1_Portugal .....
#Limousin_FJ815889.1_Portugal C.....
#Limousin_FJ815888.1_Portugal ..A.....
#Limousin_FJ815887.1_Portugal ..A...CG..
#Limousin_FJ815886.1_Portugal .....
#Limousin_FJ815885.1_Portugal .....G.....
#Limousin_FJ815884.1_Portugal .....
#Limousin_FJ815883.1_Portugal .....C.....
#Limousin_FJ815882.1_Portugal .....
#Limousin_FJ815881.1_Portugal .....C.....
#Limousin_FJ815880.1_Portugal ....G.C....
#Limousin_AF336511.1 C.....C....
#Limousin_AF336510.1 .....C.....
#Limousin_AF336509.1 ..C.....A.....T.C.
#Limousin_AF336508.1 .....G.....
#Limousin_AF336507.1 .....C.....
#Limousin_AF336506.1 ...T..... ..T
#Limousin_AF336505.1 ..... ..T. ..
#Limousin_AF336504.1 .....
#Limousin_AF336503.1 ...T..... ..G....
#Limousin_AF336502.1 .....T.....

```

Рис. 3. Однонуклеотидні поліморфізми гіперваріабельного району мтДНК у тварин породи лімузин

Тварини FJ815881 та AF336510 характеризуються однаковими однонуклеотидними замінами Т на С в положенні 16122, що може свідчити про їхні родинні зв'язки за материнською лінією. Варто зазначити, що сиквенси FJ815881 та AF336510 отримано різними авторами від територіально віддалених тварин (Португалія та Англія). Виявлено шість тварин (FJ815895, FJ815893, FJ815890, FJ815886, FJ815884, FJ815882), які за дослідженим гіперваріабельним районом мтДНК ідентичні референтній послідовності мітохондріальної ДНК породи герефорд (V00654), а також описаним вище 16 тваринам породи шароле.

Висновки. Аналіз однонуклеотидних замінів у гіперваріабельному районі мітохондріальної ДНК тварин шаролезької та лімузинської порід великої рогатої худоби показав приналежність більшості тварин до європейської гаплогрупи Т3.

За однонуклеотидними поліморфізмами послідовностей мтДНК виявлено три тварини породи шароле та одну тварину породи лімузин, які за мтДНК належать до гаплогрупи Т1а африканського походження.

Результати аналізу показують ідентичність характеру розщеплення мтДНК помісних і чистопородних тварин та узгоджуються з материнським типом успадкування мітохондріального геному. Подібність гаплотипів вихідних чистопородних і помісних тварин підкреслює збереження інтактною материнської основи при міжпородних схрещуваннях у гібридів у низці поколінь, що впливає на оцінку генетичної гетерогенності.

Подяка. За науковий супровід роботи висловлюємо вдячність завідувачу відділу генетики Інституту розведення і генетики тварин НААН доктору сільськогосподарських наук К.В. Копилову, завідувачу відділу селекції і розведення Інституту свинарства та агропромислового виробництва НААН доктору сільськогосподарських наук К.Ф. Почерняєву.

1. *Генетико-селекційний моніторинг у м'ясному скотарстві* / М.В. Зубець [та ін.]; за ред. М.В. Зубця. — К.: Аграр. наука, 2000. — 187 с.

2. *Генетико-селекційний моніторинг у молочному скотарстві* / М.В. Зубець [та ін.]; наук. ред. В.П. Бурката. — К.: Аграр. наука, 1999. — 88 с.

3. *Стопловский Ю.А.* Концепция и принципы генетического мониторинга для сохранения *in situ* пород доместифицированных животных / Стопловский Ю.А. // *Сельскохозяйственная биология*. — 2010. — № 6. — С. 3–8.

4. *Mitochondrial sequence variation suggests an African influence in Portuguese cattle* / T. Cymbron [et al.] // *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological sciences*. — 1999. — V. 266. — P. 597–603.

5. *Почерняєв К.Ф.* Установлення породності свиней з використанням поліморфізму мітохондріального геному / К.Ф. Почерняєв, А.А. Гетья // *Розведення і генетика тварин*. — 2007. — Вип. 41. — С. 233–239.

6. *Evidence for two independent domestications of cattle* / R.T. Loftus [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 1994. — V. 91. — P. 2757–2761.

7. *Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (Bos taurus)* / J. Kantanen [et al.] // *Heredity*. — 2009. — V. 103. — P. 404–415.

8. *Intraspecific* phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics / J.C. Avise [et al.] // *An. Rev. Ecol. Syst.* – 1987. – V. 18. – P. 489–522.

9. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle / C.S. Troy [et al.] // *Nature.* – 2001. – V. 410. – P. 1088–1091.

10. *Mitochondrial* genomes of extinct aurochs survive in domestic cattle / A. Achilli [et al.] // *Current Biology.* – 2008. – V. 18. – P. 157–158.

11. *Origins* and genetic diversity of New World Creole cattle: inferences from mitochondrial and Y chromosome polymorphisms / C. Ginja [et al.] // *Animal Genetics.* – 2010. – V. 41, № 2. – P. 128–141.

12. Genetic diversity and origin of Chinese cattle revealed by mtDNA D-loop sequence variation / S. J. Lai [et al.] // *Molecular Phylogenetics and Evolution.* – 2006. – V. 38. – P. 146–154.

13. *Independent* mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle / H. Mannen [et al.] // *Molecular Phylogenetics and Evolution.* – 2004. – V. 32. – P. 539–544.

14. *African-derived* mitochondria in South American native cattle breeds (*Bos taurus*): evidence of a new taurine mitochondrial lineage / M.M. Miretti [et al.] // *Journal of Heredity.* – 2002. – V. 93. – P. 323–330.

15. *Complete* sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved features of the mammalian mitochondrial genome / S. Anderson [et al.] // *Journal of Molecular Biology.* – 1982. – V. 156. – P. 683–717.

АНАЛИЗ ДАННЫХ МИРОВОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО БАНКА: ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПОРОД ШАРОЛЕ И ЛИМУЗИН

Ю.В. Подоба

Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)

*Проведен сравнительный анализ последовательностей митохондриального генома крупного рогатого скота пород шароле и лимузин (*Bos taurus*) с мирового генетического банка. Анализ доступных 29 сиквенсов гипервариабельного района митохондриальной ДНК (мтДНК) породы шароле и 27 сиквенсов мтДНК породы лимузин дал возможность распределить их по принадлежности к европейской и африканской гаплогруппам за происхождением митохондриального генома. Среди проанализированных последовательностей мтДНК обнаружены два идентичные гаплотипа у четырех животных породы шароле и у двух животных породы лимузин, которые по сходству однонуклеотидных замен в гипервариабельном районе мтДНК, вероятно, имеют родственную связь по материнской линии.*

Ключевые слова: *Bos taurus*, порода, шароле, лимузин, мтДНК, гаплогруппа, SNP

GENEBANK ANALYSIS: SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS OF ANIMALS MITOCHONDRIAL GENOME CHAROLAIS AND LIMOUSIN CATTLE BREEDS

Y.V. Podoba

Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS (Chubinskoe, Ukraine)

*A comparative analysis of animals mitochondrial genome sequences Charolais and Limousin cattle breeds (*Bos taurus*) with global genetic bank. Analysis of the available 29 mitochondrial DNA (mtDNA) sequences of Charolais animals and 27 mtDNA sequences of Limousin animals allowed to distribute them as belonging to the European and African haplogroups by the origin of mtDNA. Among the sequences were revealed two identical mtDNA haplotypes in four animals of Charolais breed and two animals of Limousin breed, which by the similarity of single nucleotide substitutions in the mtDNA hypervariable region probably have a family relationship from the parent line.*

Key words: *Bos taurus*, breed, Charolais, Limousin, mtDNA, haplogroups, SNP



УДК 577.21:57.08:633.15

ОЦІНЮВАННЯ ВПЛИВУ ГЕННИХ МОДИФІКАЦІЙ НА МІНЕРАЛЬНИЙ СКЛАД ВЕГЕТАТИВНОЇ МАСИ КУКУРУДЗИ ЯК СКЛАДОВОЇ КОРМУ ДЛЯ ТВАРИН

Т.Е. ТКАЧИК

*Інститут тваринництва НААН (Харків, Україна)
tim.tkachik@gmail.com*

Велике значення в організації повноцінного мінерального живлення сільськогосподарських тварин відіграють мікроелементи. У даній роботі наведено аналіз та порівняльну оцінку вмісту Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} у силосі, виготовленому з вегетативної маси генетично модифікованої та звичайної кукурудзи в господарствах Харківської області. Встановлено, що вбудовані генні конструкції, які зумовлюють появу принципово нових для даного виду ознак, не впливають на кількість досліджених есенціальних мікроелементів у силосі. Зафіксовані незначні відмінності у мінеральному складі досліджених зразків носили випадковий характер.

© Т.Е. Ткачик, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

Ключові слова: годівля тварин, ГМО, генні конструкції, рекомбінантна ДНК, мінеральний склад, кукурудза

Введення. Повноцінна годівля є ключовим фактором у забезпеченні високої продуктивності тварин. Останнім часом все більше уваги у всьому світі приділяється дослідженням використання у годівлі тварин генетично модифікованих рослин, які створюються із застосуванням методів генної інженерії.

Технологія рекомбінантних ДНК, яка з'явилася на початку 70-х років минулого століття, відкрила можливість отримання організмів, що містять чужорідні гени (генетично модифіковані організми – ГМО). Безумовно, це викликало стурбованість громадськості і поклало початок дискусії про безпеку подібних маніпуляцій [1]. Протягом декількох десятиріч пильна увага приділялась цьому питанню у всьому світі. Багатьма фахівцями у цій галузі обговорювалися можливі ризики, пов'язані зі створенням ГМО [2, 3]. Це питання не втратило своєї актуальності і дотепер.

Нині продовольча і сільськогосподарська організація ООН (FAO) розглядає використання методів генетичної інженерії для створення трансгенних сортів рослин або інших організмів як невід'ємну частину сільськогосподарської біотехнології. Пряме перенесення генів, що детермінують господарськи корисні ознаки, розширило можливості селекціонерів у частині керованості процесу створення нових сортів, зокрема передачі корисних ознак між видами, які не схрещуються між собою [4, 5].

Як наголошується у доповіді Генерального директорату Європейської комісії з науки та інформації, на даний час фахівцями отримано наукові дані про відсутність підвищеної небезпеки продуктів із генетично модифікованих організмів порівняно з продуктами, отриманими з організмів, виведених традиційними методами [5, 6].

Наразі у світі існує понад 150 дозволених до розмноження сортів та ліній генетично модифікованих рослин, які об'єднуються в 22 види (згідно з базою даних Центру оцінки ризиків для навколишнього середовища CERA, USA). Найбільш розповсюджені серед них такі види, як кукурудза та соя [7].

Незважаючи на те, що існує вже багато експериментальних робіт у цьому напрямку, нині майже немає досліджень, присвячених з'ясуванню можливого впливу наявності генних конструкцій у геномі різних видів рослин на вміст мікро- та макроелементів у них [8, 9].

Проте мікроелементи належать до речовин, що мають велике значення в організації повноцінного мінерального живлення сільськогосподарських тварин. Вони беруть участь у регулюванні основних фізіологічних процесів у тваринному організмі – рості, розвитку, розмноженні, кровотворенні, диханні та ін. [10, 11]. Мікроелементи входять до складу гормонів, ферментів, вітамінів, беруть активну участь в обмінних функціях тваринного організму [12, 13].

Оскільки мінеральний склад рослин дуже лабільний і залежить від багатьох чинників (типу ґрунтів, кліматичних умов, виду рослин, фази вегетації тощо),

можна припустити, що наявність у геномі рослин трансгену, який зумовлює синтез специфічного білка та появу нової для конкретного виду рослин ознаки, може впливати на мікроелементний склад рослин.

У зв'язку з цим метою наших досліджень було встановлення наявності генетичних модифікацій у кукурудзяному силосі, а також визначення та аналіз вмісту таких есенційних мікроелементів, як Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} у силосі зі звичайної та генетично модифікованої кукурудзи.

Матеріали і методи досліджень. Матеріалом для досліджень були зразки силосу, виготовленого із зеленої маси генетично модифікованої та звичайної кукурудзи. Визначення наявності або відсутності трансгенної ДНК проводили за допомогою ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції). Виділення ДНК здійснювалось за використанням методу фенол-хлороформної екстракції з власними модифікаціями, а визначення наявності трансгенних подій (35S-промотору та pos-термінатора) – за допомогою набору «GenPak GMO-NOS+35S PCR test» («Віокон», Росія).

Електрофорез проводили при напрузі поля 200 V та експозиції 30 хв. Як барвник ДНК було використано бромистий етидій. Результати досліджень фіксували за допомогою трансілюмінатора ТУВ-2 після візуалізації ампліконів у 1,5%-му агарозному гелі.

Вміст міді, цинку, марганцю та заліза у дослідних зразках визначали стандартизованим методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії.

Статистичні гіпотези перевіряли за допомогою критерію t на рівні значущості $p < 0,05$ [14].

Результати досліджень, їхнє обговорення. Для визначення наявності генетичних модифікацій у кукурудзяному силосі було відібрано 39 зразків дослідного матеріалу з 27 господарств Харківської області.

Фірмовий набір, який було використано у роботі, дає змогу одночасно ідентифікувати в дослідних зразках і промотор, і термінатор (допоміжні генні конструкції при трансгенезі, рисунок). Якщо у геномі дослідного зразка був присутній 35S промотор, то ампліфікувалась ділянка розміром 194 п.н. (бенди на треках 2, 7), якщо pos-термінатор – 169 п.н. (бенди на треках 4, 5). Якщо у зразку були присутні обидві штучно вбудовані конструкції, то ампліфікувались обидві ділянки (бенди на треці 1). За відсутності у зразках вказаних конструкцій, бендів на треках ми не спостерігали (трек 3).

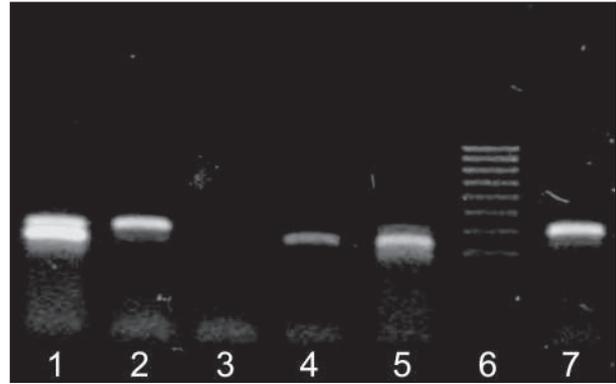
Нами було з'ясовано, що серед досліджених 39 зразків кукурудзяного силосу 12 (30,8%) були генетично модифікованими.

Методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії у дослідних зразках було визначено вміст наступних мікроелементів – Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} . Для визначення можливих відмінностей за кількістю цих мікроелементів у силосі зі звичайної та генетично модифікованої кукурудзи (К(зв) – кукурудза звичайна, К(гм) – кукурудза генетично модифікована) було визначено та порівняно вміст цих елементів.

Порівняльний аналіз отриманих даних дав змогу з'ясувати можливий вплив наявності трансгенних конструкцій на вміст зазначених мікроелементів у досліджених зразках. Результати аналізу наведено в таблиці.

Так, вміст міді у силосі ГМ кукурудзи коливався від 0,65 до 0,90 мг/кг, а у звичайній кукурудзі – від 0,73 до 0,93 мг/кг. Середні значення показників статистично значущі ($p > 0,05$) не відрізнялися від середнього, визначеного по Харківській області, і становили $K(\text{ГМ}) = 0,78 \pm 0,03$ мг/кг, $K(\text{ЗВ}) = 0,83 \pm 0,02$ мг/кг [15].

Вміст марганцю був дещо менший у $K(\text{ГМ}) = 9,25 \pm 0,34$ мг/кг порівняно з $K(\text{ЗВ}) = 9,52 \pm 0,29$ мг/кг, однак різниця виявилася статистично не значуща ($p > 0,05$).



Електрофореграма продуктів ампліфікації (1,5%-й агарозний гель):
1–5 – треки; 6 – маркер молекулярної маси М-50; 7 – дослідні зразки кормів для тварин

Вміст мікроелементів у силосі, який було виготовлено із модифікованої та звичайної кукурудзи (Харківська область) ($n_{\text{ГМ}} = 12$; $n_{\text{ЗВ}} = 27$)

Показник	Вміст есенційних мікроелементів, мг/кг							
	Cu^{2+}		Mn^{2+}		Zn^{2+}		Fe^{2+}	
	Наявність генетичних модифікацій							
	К(ГМ)	К(ЗВ)	К(ГМ)	К(ЗВ)	К(ГМ)	К(ЗВ)	К(ГМ)	К(ЗВ)
$\bar{x} - S_{\bar{x}}$	0,78 $\pm 0,03$	0,83 $\pm 0,02$	9,25 $\pm 0,34$	9,52 $\pm 0,29$	4,64 $\pm 0,19$	4,31 $\pm 0,16$	53,41 $\pm 1,38$	51,88 $\pm 1,53$
Min	0,65	0,73	7,80	8,25	3,85	3,82	46,58	45,20
Max	0,90	0,93	11,05	10,54	5,52	5,12	59,63	58,13
$\sigma \pm S_{\sigma}$	0,079 $\pm 0,018$	0,064 $\pm 0,014$	1,01 $\pm 0,23$	0,88 $\pm 0,20$	0,58 $\pm 0,13$	0,49 $\pm 0,11$	4,15 $\pm 0,93$	4,60 $\pm 1,03$
$C_v \pm S_{C_v}$	10,08 $\pm 2,25$	7,76 $\pm 1,74$	10,96 $\pm 2,45$	9,29 $\pm 2,07$	12,41 $\pm 2,78$	11,33 $\pm 2,53$	7,77 $\pm 1,74$	8,86 $\pm 1,98$
t_f	1,47		0,60		1,31		0,74	
p	$p > 0,05$		$p > 0,05$		$p > 0,05$		$p > 0,05$	

Примітка. $\bar{x} - S_{\bar{x}}$ – середнє арифметичне та його помилка; Min – мінімальне значення показника; Max – максимальне значення показника; $\sigma \pm S_{\sigma}$ – середнє квадратичне відхилення та його помилка; $C_v \pm S_{C_v}$ – коефіцієнт варіації та його помилка; t_f – фактичне значення t-критерію Стюдента; p – рівень статистичної значущості.

Коливання значень вмісту цинку були незначними – від 3,85 до 5,52 мг/кг у модифікованій та від 3,82 до 5,12 мг/кг у немодифікованій кукурудзі. Середні значення становили відповідно $4,64 \pm 0,19$ і $4,31 \pm 0,16$ мг/кг.

За вмістом заліза дослідні зразки також значуще не різнилися між собою ($p > 0,05$). У силосі, який був виготовлений із модифікованої кукурудзи, кількість заліза була $53,41 \pm 1,38$ мг/кг, а у зразках із звичайною кукурудзою – $51,88 \pm 1,53$ мг/кг.

У ході цих досліджень нами не виявлено будь-яких вірогідних відмінностей у мінеральному складі силосу, який було виготовлено із модифікованої та звичайної кукурудзи. Так, значення вмісту досліджених мікроелементів у силосі майже не відрізнялися від показників, установлених по Харківській області раніше [15]. На підставі отриманих даних пропонуємо вважати, що наявність штучно вбудованих генних конструкцій не змінює фізіологічні та біохімічні процеси в кукурудзі таким чином, щоб це мало змогу вплинути на вміст мікроелементів у ній.

Висновки. Не виявлено статистично значущої різниці між вмістом таких есенційних мікроелементів, як Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , у силосі, виготовленому з генетично модифікованої та звичайної кукурудзи.

Наявність у досліджених зразках кукурудзи трансгенних конструкцій не впливає на кількість елементів у силосі, який з них отримано.

1. Глик Б. Молекулярна біотехнологія / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – С. 517–589 – ISBN 5-03-003328-9.

2. *Potential Biohazards of Recombinant DNA Molecules* / Berg Paul David Baltimore [et al.] / Science. – 185, no. 4148 (26 July 1974). – 303 p.

3. *Marshall A. GM soybeans and health safety – a controversy reexamined* / Marshall A. // Nature Biotechnology. – 2007. – V. 25, N 9. – P. 981–987.

4. *GMOs in the pipeline: Looking to the next five years in the crop, forestry, livestock, aquaculture and agro-industry sectors in developing countries* / FAO e-mail conference on GMOs in the pipeline in developing countries / 5 November–2 December 2012 (FAO), <http://www.fao.org/biotech/en/>.

5. *European Commission website*, <http://ec.europa.eu/research/quality-of-life/gmo/index.html>.

6. *European Commission Directorate-General for Research and Innovation; Directorate E – Biotechnologies, Agriculture, Food; Unit E2 – Biotechnologies* (2010).

7. *Center for Environmental Risk Assessment, GM Crop Database*, http://ceramc.org/index.php?action=gm_crop_database.

8. *Hickman Micronutrient levels in normal and glyphosate-resistant soybean* / Darrin M. [et al.] // North Central Weed Science Society Abstracts / 57:107, IN 47907, 2002.

9. *Unnevehr L. Addressing Micronutrient Deficiencies: Alternative Interventions and Technologies* / L. Unnevehr, C. Pray, R. Paarlberg // AgBioForum. – 2007. – 10(3). – P. 124–134.

10. *Нормы потребностей молочного скота в питательных веществах в США*; пер. с англ. – М, 2007. – 383 с.

11. *Мотовило К.Я.* Экспертиза кормов и кормовых добавок [Текст] : учеб. пособие для студентов высших учебных заведений / К.Я. Мотовилов, А.П. Булатов, В.М. Позняковский. – Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2009. – С. 11–20.

12. *Башкин В.Н.* Биогеохимия / Башкин В.Н. – М. : Научный мир, 2004. – 582 с.

13. *Шаповалов С.О.* Оцінка вмісту есенційних мікроелементів у кормах України з урахуванням впливу різних чинників / С.О. Шаповалов [та ін.] // Вісн. аграр. науки. – 2011. – № 7. – С. 36–40.

14. *Плохинский Н.А.* Математические методы в биологии: учеб.-метод. пособие / Плохинский Н.А. – М. : Изд. Моск. ун-та, 1978. – 265 с.

15. *Богданов Г.О.* Інформаційна база даних хімічного складу кормів України для організації обґрунтованої годівлі сільськогосподарських тварин / Г.О. Богданов [та ін.]. – Х. : Інститут тваринництва НААН, 2010. – 214 с.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГЕННЫХ МОДИФИКАЦИЙ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ ВЕГЕТАТИВНОЙ МАССЫ КУКУРУЗЫ КАК СОСТАВЛЯЮЩЕЙ КОРМА ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Т.Э. Ткачик

Институт животноводства НААН (Харьков, Украина)

Большое значение в организации полноценного минерального питания сельскохозяйственных животных играют микроэлементы. В данной работе приведен анализ и сравнительная оценка содержания Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} в силосе, приготовленном из вегетативной массы генетически модифицированной и обычной кукурузы в хозяйствах Харьковской области. Установлено, что встроенные генные конструкции, обуславливающие появление принципиально новых для данного вида признаков, не влияют на количество исследованных эссенциальных микроэлементов в силосе. Зафиксированные незначительные различия в минеральном составе исследованных образцов носили случайный характер.

Ключевые слова: кормление животных, ГМО, генные конструкции, рекомбинантная ДНК, минеральный состав, кукуруза

ASSESSMENT OF GENE MODIFICATION INFLUENCE ON MINERAL COMPOSITION OF CORN VEGETATIVE MASS

T.E. Tkachyk

Institute of Animal Science NAAS (Harkov, Ukraine)

Trace elements play a key role in mineral nutrition of farm animals. This paper presents a comparative analysis and evaluation of the content Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} in the silage

prepared from vegetative mass of genetically modified and common maize from farms of Kharkiv region. It was found that built-in gene constructs, causing the emergence of principally new kind of traits in the race do not affect the number of such essential trace elements in the silo. Little differences observed in quantitative composition were random and statistically insignificant.

Key words: GMO, genetic constructs, recombinant DNA, mineral composition, maize



УДК 575.1:630.222.2.3

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОРОД *GALLUS GALLUS* L. С ПОМОЩЬЮ ДНК-ФИНГЕРПРИНТИНГА

**А.Л. ФИЛЕНКО¹, В.А. ВАСИЛЬЕВ¹, В.В. МИДЕЛАШВИЛИ¹,
И.Г. МОИСЕЕВА², А.А. СЕВАСТЬЯНОВА³, С.К. СЕМЕНОВА¹**

Институт биологии гена РАН (Москва, Россия)¹

Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН (Москва, Россия)²

*Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
птицеводства (Сергиев Посад, Россия)³*

trc2001@i.com.ua

Проведена генетическая дифференциация семи пород кур, разводимых на территории России и Украины с помощью мультилокусного геномного ДНК-фингерпринтинга (M13/Нае III). На основании наблюдаемой изменчивости минисателлитных маркеров с помощью парно-группового метода для невзвешенных средних (UPGMA) была построена дендрограмма генетического сходства. Показано, что все исследованные образцы формируют два надежных кластера, в один из которых объединяются майские, орловские ситцевые и юрловские голосистые куры. Вторую группу составляют все оставшиеся породы – полтавская глинистая, бурый леггорн, аппенцеллер и белохохлая голландская. Обсуждаются эффективность использования ДНК-маркеров разного типа для дифференциации пород кур, а также история происхождения изученных пород и возможные причины изменения их генетического разнообразия.

© А.Л. Филенко, В.А. Васильев, В.В. Миделашвили,
И.Г. Моисеева, А.А. Севастьянова, С.К. Семенова, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

Ключевые слова: ДНК-фингерпринтинг, минисателлиты, породы кур, генетическая дифференциация

Введение. Одной из актуальных проблем генетики сельскохозяйственных животных, и в том числе генетики домашней курицы, является изучение генетического полиморфизма и поиск геномных маркеров у различных пород. В настоящее время для изучения генетического разнообразия и паспортизации кур наряду с иммунологическими маркерами используют высокополиморфные ДНК (VNTR), а именно мини- и микросателлиты [12, 17]. С их помощью проведено генотипирование большого числа пород, разводимых в основном в разных странах Центральной и Западной Европы [10, 11, 18, 9]. Однако породы и породные разновидности кур России и Украины все еще изучены недостаточно. Имеется ряд публикаций, в которых проведена геномная паспортизация с помощью ДНК-фингерпринтинга небольшого числа пород [7, 8]. Единичные породы отечественной селекции генотипированы недавно и по микросателлитным маркерам [11].

В настоящей статье мы приводим данные сравнительного анализа генетической изменчивости нескольких пород кур, выведенных селекционерами России и Украины. Для генотипирования пород мы применили классический мультилокусный ДНК-фингерпринтинг с использованием в качестве зонда ДНК фага M13. Известно, что M13 минисателлиты широко представлены во всех эукариотических геномах. Они организованы в виде tandemных повторов и распределены по всем хромосомам с преимущественной локализацией в прицентромерных областях. Этот метод эффективен для решения многочисленных задач, связанных с оценкой генетического разнообразия, рационального использования и консервации генетических ресурсов, а также для выработки научно обоснованных рекомендаций по сохранению и воспроизводству редких и исчезающих видов животных [6]. Он издавна является незаменимым инструментом для оценки генетической изменчивости, установлении степени родства и широко используется для генетической паспортизации пород и линий домашних животных и птицы, в том числе кур [20]. Целью данной работы был анализ эффективности использования ДНК-маркеров разного типа для дифференциации пород кур, а также истории происхождения изученных пород и возможные причины изменения их генетического разнообразия.

Материал и методы исследований. Образцы венозной крови кур и петухов исследованных пород получены из двух экспериментальных хозяйств Всероссийского научно-исследовательского и технологического института птицеводства (ВНИИТИПе, г. Сергиев Посад, Московская область) и Всероссийского научно-исследовательского института разведения и генетики животных (ВНИИРГЖе животных, г. Пушкин, Ленинградская область).

Методы выделения ДНК, а также проведение классического фингерпринтинга с использованием в качестве зонда ДНК фага M13 и рестриктазы NaeIII детально описаны нами ранее [7]. Для описания внутривидовой изменчиво-

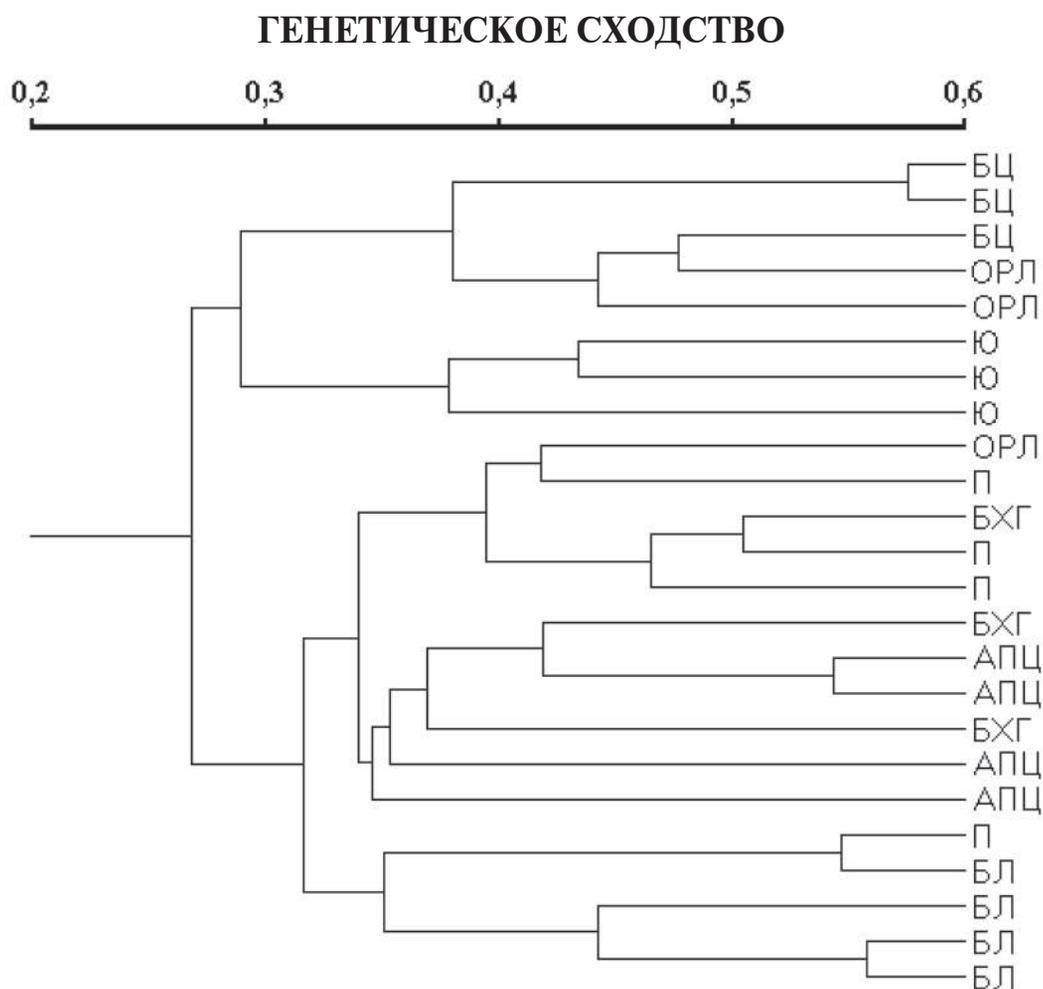
сти исследовали по 3–4 образца крови каждой из семи следующих пород: бойцовая малайская (БЦ), юрловская голосистая (Ю), орловская ситцевая (ОРЛ), полтавская глинистая (П), бурый леггорн (БЛ), белохохлая голландская (БХГ), аппенцеллер (АПЦ). Воспроизводимость результатов и калибровка гибридизационных фрагментов, выявляемых у 24 образцов ДНК, подтверждены в двух повторных экспериментах.

На основании электрофореграмм составляли бинарные матрицы, где «1» или «0» обозначали присутствие или отсутствие фрагмента определённой длины. Для каждой пары особей рассчитывали коэффициент сходства $S=2N_{AB}/(N_A+N_B)$, где N_A и N_B – число фрагментов, выявляемых у особей А и В соответственно, и N_{AB} – число общих фрагментов [15]. При построении дендрограмм использовали парно-групповой метод для невзвешенных средних (UPGMA) из пакета прикладных программ TREECON [19].

Результаты исследований и их обсуждение. ДНК-фингерпринты пород кур, полученные с пробой ДНК фага M13, представляют собой спектры дискретных полос с интенсивной гибридизацией и характеризуются различным числом, расположением и интенсивностью выявленных фрагментов. Размер детектируемых фрагментов находится в пределах 1,7–23,0 т.п.н. Число индивидуальных фрагментов с размером 2,3–18,6 варьирует на первом фильтре от 38 до 48, на втором фильтре – от 40 до 46, что составляет в среднем 41,1 и 40,6 соответственно. Высокая индивидуальная вариабельность по числу фрагментов не позволяет выявить ни различия между отдельными особями, ни различия между отдельными породами. Однако при построении дендрограммы (рисунок) все исследованные образцы формируют с высокой достоверностью две надежные группы. В одну из них объединены по три представителя юрловских и бойцовых кур, а также две особи орловских кур. Юрловские куры формируют обособленный подкластер, отличный от смешанной группы из трех бойцовых и двух орловских кур. Одна из орловских и все оставшиеся куры, а именно полтавские, бурые леггорны, аппенцеллеры и белохохлые, составляют второй большой кластер. Внутри этой группы не обнаружено четкой принадлежности образцов к отдельным породным подгруппам. Вариация индексов сходства S в первой группе, содержащей две породы бойцовых (БЦ, ОРЛ) кур и одну мясо-яичную породу (Ю), составляет 0,28–0,57. Несколько меньший размах изменчивости показателя S (0,32–0,55) наблюдается во второй группе пород, представленной мясо-яичными (П, БХГ, АПЦ) и яичными (БЛ) курами.

Снижение генетической изменчивости в группах яичных кур по сравнению с бойцовыми и мясными породами обнаружена ранее при использовании в качестве генетических маркеров изоферментного и белкового полиморфизма [1, 4], а также при использовании RAPDs [8] и микросателлитов [11]. В этих работах показано, что снижение полиморфизма наблюдается в длительно селектируемых человеком популяциях по сравнению с нативными популяциями кур из разных регионов. Это связано, в первую очередь, с интенсивностью и направлением отбора, приводящего к повышению уровня инбридинга в

длительно селектируемых породах, и почти не зависит от используемого типа маркеров. Впервые к такому выводу пришли в одной из первых работ по калибровке уровня инбридинга по минисателлитам M13 у шести яичных пород с известной историей [13]. В дальнейшем доминирующая роль искусственного отбора в сохранении генетического разнообразия кур продемонстрирована при сравнении изменчивости минисателлитов в стандартизированных линиях кур с высоким уровнем инбридинга [16]. Относительно недавно к аналогичному выводу пришли при генотипировании по микросателлитам большого числа пород и популяций разного типа из Европы и Азии [11].



Дендрограмма генетического сходства между представителями семи пород кур

Следует заметить, что генетическое разнообразие современных пород во многом определяется также их географическим происхождением и системой скрещиваний, лежащих в основе предковых популяций. Известно, что исторические корни мясных и бойцовых кур находятся в Азии, тогда как яичный тип пород формировался в Средиземноморье [2, 4]. Европейские мясо-яичные куры составляют, главным образом, смешанную группу, полученную преимущественно на основе скрещиваний местных пород яичного типа с после-

дующей селекцией по массе тела [4] (Моисеева, 2006). Этот вывод касается не только пород европейской селекции, но и полтавской глинистой [14] (Moiseeva et al., 2007). Именно этим и объясняется наблюдаемое нами на дендрограмме отсутствие породоспецифичных групп в большом кластере мясо-яичных и яичных кур. Что же касается юрловских мясо-яичных кур, то их кластеризация исключительно с бойцовыми малайскими и орловскими подтверждает азиатское происхождение основателей этой породы. К сожалению, мы не можем оценить на основании представленных данных вклад, долю крови в формирование этой породы бойцовых и мясных азиатских кур. Участие этих кур в формировании юрловской породы показано ранее при изучении морфологических признаков [4, 5]. Интересно, что в одном из исследований, проводившихся в рамках Международного проекта AVIANDIV (1999–2000), юрловская голосистая была представлена двумя выборками: из экспериментального хозяйства ИП УААН (Украина) и ВНИТИП (Российская Федерация). От каждой страны были протестированы образцы крови от 50 особей данной породы по 25 микросателлитным локусам. Из отечественных пород наряду с юрловскими курами обследованы орловские, полтавские глинистые и украинская бородастая. Показано, что среди всех изученных популяций именно юрловская порода характеризуется наиболее высокими индексами гетерозиготности (H) и средней частотой полиморфных локусов (P). Это разнообразие несколько выше в российской популяции юрловских кур (H=0,66, P=1) по сравнению с курами Украины (H=0,58, P=1). В другой более поздней работе, выполненной участниками проекта [11] на том же материале с использованием 22 динуклеотидных микросателлитных локусов, значение H у юрловских кур из России составило 0,62, из Украины – 0,58 (среднее значение по всей совокупности популяций – 0,47).

Происхождение старой русской породы орловских кур, которых относят к мясо-яичным курам с морфотипом бойцовых кур, окончательно не установлено. На основании изучения полиморфизма белков яиц и крови, дискретных морфологических признаков продемонстрирована генетическая уникальность этой породы и выявлено ее родство с английскими бойцовыми старого типа, гилянскими и малайскими бойцовыми курами [3, 4]. При анализе микросателлитного полиморфизма подтверждено сходство орловских и бойцовых кур [11]. Дифференциация образцов этой породы в нашем исследовании также свидетельствует о высоком сходстве орловских кур с малайскими курами. Однако на основании дендрограммы нельзя исключить у исследованной нами птицы примесь крови европейских пород.

Выводы. Показана эффективность использования мультилокусного геномного ДНК-фингерпринтинга (M13/Нае III) в качестве ДНК-маркера для дифференциации пород кур украинской и российской селекции. История происхождения изученных пород и возможные причины изменения их генетического разнообразия требуют дальнейшего исследования с привлечением более широкого набора маркеров на более многочисленной выборке пород и породных групп кур.

1. *Дифференциация* пород кур по биохимическим маркерам генов / И.Г. Моисеева [и др.] // Генетика. – 1984. – Т. 20, № 4. – С. 672–681.
2. *Моисеева И.Г.* Отечественные породы кур // Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных: редкие и исчезающие отечественные породы / Моисеева И.Г.; под ред. И.А. Захарова. – М.: Наука, 1992. – С. 11–112.
3. *Генетическая* структура и происхождение старой русской орловской породы кур / И.Г. Моисеева [и др.] // Генетика. – 1994. – Т. 30, № 5. – С. 681–694.
4. *Моисеева И.Г.* Породы кур и их генофонды / И.Г. Моисеева; отв. ред. И.А. Захаров // Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства России. – М.: Наука, 2006. – С. 229–388.
5. *Никифоров А.А.* Место русских пород кур в разнообразии пород Евразии / А.А. Никифоров, И.Г. Моисеева, И.А. Захаров // Генетика. – 1998. – Т. 34, № 6. – С. 850–851.
6. *Рысков А.П.* Мультилокусный ДНК-фингерпринтинг в генетико-популяционных исследованиях биоразнообразия / Рысков А.П. // Молекулярная биология. – 1999. – Т. 33, № 6. – С. 997–1011.
7. *Использование* полиморфных маркеров для дифференциации пород кур различного происхождения / С.К. Семёнова [и др.] // Генетика. – 1996. – Т. 32. – С. 795–803.
8. *Генетический* полиморфизм русских, европейских и азиатских пород кур, выявляемый с помощью ДНК и белковых маркеров / С.К. Семёнова [и др.] // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 9. – С. 1304–1308.
9. *Genetic structure of a wide-spectrum chicken gene pool / Z. Granevitze [et al.] // Animal Genetics. – 2009. – Vol. 40, № 5. – P. 686–693.*
10. *DNA fingerprints of poultry / J. Hillel [et al.] // Anim. Genetics. – 1989. – Vol. 20. – P. 145–155.*
11. *Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools / J. Hillel [et al.] // Genet. Sel. Evol. – 2003. – № 35. – P. 533–557.*
12. *DNA fingerprinting: a tool for determining genetic distances between strains of poultry / U. Kuhnlein [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 1989. – Vol. 77. – P. 669–672.*
13. *Assessment of inbreeding by DNA fingerprinting: development of a calibration curve using defined strains of chickens / U. Kuhnlein [et al.] // Genetics. – 1990. – Vol. 125. – P. 161–165.*
14. *Poltava chicken breed of Ukraine: history, characterization and conservation / I.G. Moiseyeva [et al.] // Animal Genetic Resources Information. – 2007. – № 40. – P. 71–78.*
15. *Nei M.* Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases / M. Nei, W.-H. Li // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1979. – № 76. – P. 5269–5273.
16. *Plotsky Y.* Genetic characterization of highly inbred chicken lines by two DNA methods: DNA fingerprinting and polymerase chain reaction using arbitrary primers / Y. Plotsky, M.G. Kaiser, S.J. Lamont // Animal Genetics. – 1995. – Vol. 26. – P. 163–170.
17. *Romanov M.N.* Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers / M.N. Romanov, S. Weigend // Poultry Science. – 2001. – Vol. 80. – P. 1057–1063.

18. *Empirical* evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds / N.A. Rosenberg [et al.] // *Genetics*. – 2001. – Vol. 159. – P. 699–713.

19. *Van der Peer Y.* TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment / Y. Van der Peer, R. De Wachter // *Comput. Applic. Biosci.* – 1994. – Vol.10. – P. 569–570.

20. *Weigend S.* Current strategies for the assessment and evaluation of genetic diversity in chicken resources / S. Weigend, M.N. Romanov // *World's Poultry Science Journal*. – 2001. – Vol. 57, № 3. – P. 275–288.

ГЕНЕТИЧНА ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ ПОРІД *GALLUS GALLUS* L. ЗА ДОПОМОГОЮ ДНК-ФІНГЕРПРИНТИНГУ

А.Л. Філенко¹, В.А. Васильєв¹, В.В. Міделашвілі¹, І.Г. Моїсеєва²,
А.А. Севастьянова³, С.К. Семенова¹

Інститут біології гена РАН (Москва, Росія)¹

Інститут загальної генетики імені М.І. Вавилова РАН (Москва, Росія)²

Всеросійський науково-дослідний і технологічний інститут птахівництва (Сергієв Посад, Росія)³

Проведено генетичну диференціацію семи порід курей, що розводяться на території Росії і України за допомогою мультилокусного геномного ДНК-фінгерпринтингу (M13/Нае III). На основі мінливості мінісателітних маркерів, яку спостерігали за допомогою парно-групового методу для незважених середніх (UPGMA), було побудовано дендрограму генетичної схожості. Показано, що усі досліджені зразки формують два надійні кластери, в один з яких об'єднуються малайські, орловські ситцеві і юрловські голосисті кури. До другої групи належать усі породи, що залишилися, – полтавська глиниста, бурій леггорн, апенцелер і білохохла голландська. Обговорюються ефективність використання ДНК-маркерів різного типу для диференціації порід курей, а також історія походження вивчених порід і можливі причини зміни їхньої генетичної різноманітності.

Ключові слова: ДНК-фінгерпринтинг, мінісателіти, породи курей, генетична диференціація

GENETIC DIFFERENTIATION OF BREEDS *GALLUS GALLUS* L. WITH DNA FINGERPRINTING

A.L. Filenko¹, V.A. Vasilyev¹, V.V. Midelashvili¹, I.G. Moiseeva², A.A. Sevastyanova³,
S. K. Semyanova¹

Institute of Gene Biology RAS (Moscow, Russia)

N.I. Vavilov Institute of General Genetics RAS (Moscow, Russia)

All-Russian Scientific Research and Technological

Institute of Poultry (Sergiev Posad, Russia)

Genetic differentiation of seven Russian and Ukrainian chicken breeds had been carried out with multilocus genome DNA fingerprinting. Dendrogram of genetic similarity was constructed

(UPGMA method) on the base of minisatellite variability. It was shown that studied breeds formed two distinguished clusters. One of them contained the Malay Game, Orlov Calico and Yurlov Sonorous breeds. The second cluster included Poltava Clay, Leghorn Brown, Appentseller and Holland White Crested breeds. The efficiency of DNA-markers of different types use for chicken breed genetic differentiation, the history of studied breeds' origin and possible reasons for their genetic diversity change were discussed.

Key words: DNA fingerprinting, minisatellites, chicken breeds, genetic differentiation

УДК 575.113:636.92

ГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА КРОЛІВ НОВОЗЕЛАНДСЬКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ ЗА ПОЛІМОРФНИМИ ВАРІАНТАМИ С34Т ГЕНА *MSTN* ТА G2464A ГЕНА *PGR*

Є.А. ШЕВЧЕНКО^{1,2}, К.В. КОПИЛОВ¹, О.М. ФЕДОТА^{1,3}

Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)¹

Черкаська дослідна станція біоресурсів ІРГТ НААН (Черкаси, Україна)²

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна (Харків, Україна)³

shevchenko.e.a.ser@gmail.com

*Представлено результати генотипування кролів новозеландської білої породи за поліморфними варіантами С34Т гена міостатину (*MSTN*) та G2464A гена прогестеронового рецептора (*PGR*). Розподіл частот алелів досліджуваних генів становив: С – 0,471 і Т – 0,529, G – 0,433 і А – 0,567. Доведено вплив генотипу кролів за генами міостатину та прогестеронового рецептора на прояв господарськи корисних ознак – середньодобового приросту, багатоплідності, диференційної адаптивності до інфекційних захворювань. Тому в господарствах найбільш ефективним напрямом селекції кролів новозеландської білої породи за поліморфним варіантом С34Т гена *MSTN* буде добір на користь гетерозигот СТ.*

Ключові слова: кролі, ПЛР-ПДРФ, міостатин, прогестероновий рецептор, продуктивність

Введення. Актуальним питанням у кролівництві наразі є вивчення генетичних детермінант високої продуктивності й використання генетичного моніто-

© Є.А. Шевченко, К.В. Копилов, О.М. Федота, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

рингу при управлінні селекційним процесом [1]. Багатовікова практика ведення цієї галузі тваринництва розробила різні методи створення та поліпшення порід, суть яких зводиться до виявлення та інтенсивного використання тварин із бажаними ознаками [2, 3]. Однак нині стає очевидним, що одні лише традиційні методи селекції не можуть забезпечити відчутного селекційного прогресу в породах, більш того, постає питання про покращання тих господарськи корисних ознак, які мають низькі коефіцієнти успадковування [4].

З розвитком молекулярної генетики стала можливою ідентифікація кандидатних генів, прямо чи опосередковано пов'язаних з ростом та формуванням м'ясної продуктивності кролів, наприклад гена міостатину (*MSTN*) [5]. Генна мережа відтворної здатності кролів, на нашу думку, складається з генів прогестеронового рецептора (*PGR*), утероглобуліну (*SCGB1A1*), інсулінподібного фактора росту 1 (*IGF1*), тканинного інгібітору металопротеїнази (*TIMPI*) [6–9].

Ген міостатину (*MSTN*) локалізований у 7-й хромосомі. Міостатин, фактор росту і диференціювання 8, є членом родини трансформувального фактора росту (TGF- β) та бере участь у пригніченні росту і диференціюванні скелетних м'язів тварин. Мутації в гені міостатину та їхні фенотипічні ефекти у вигляді збільшення м'язової маси описано для м'ясних порід великої рогатої худоби, мишей, собак, наприклад малої англійської борзої, людини. Однонуклеотидний поліморфізм гена міостатину кролів (заміна цитозину на тимін у 34-й позиції першого інтрона) було описано L. Fontanessi у 2008 р. [9].

Ген прогестеронового рецептора міститься у 1-й хромосомі. Прогестероновий рецептор є членом суперродини інтрацелюлярних рецепторів, і його фізіологічна роль полягає у сприйнятті дії стероїдних гормонів. Ген прогестеронового рецептора в позиції 2464 у промоторній ділянці має два алельних варіанти – G і A. Відомо, що генотип кролематок за геном *PGR* має вплив на життєздатність ембріонів кролів [8].

У зв'язку з тим що й досі в Україні не проводилось молекулярних досліджень у напрямі генетики кролів, метою нашої роботи став аналіз зв'язку генотипу кролів новозеландської білої породи за поліморфними варіантами досліджуваних генів з проявом господарськи корисних ознак.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проведено на поголів'ї (випадкова вибірка) кролів новозеландської білої породи, які утримувалися в умовах кролеферми СГПП «Марчук Н.В.» (с. Ташлик Смілянського району Черкаської області).

Оцінку фенотипу тварин – м'ясну продуктивність та відтворну здатність кролів визначено за даними зоотехнічного обліку згідно з Інструкцією з бонітування кролів [10]. Як господарськи корисні ознаки було обрано: середньодобові прирости, масу парної тушки, витрати корму на 1 кг приросту (60–120 днів), багатоплідність і молочність кролематок.

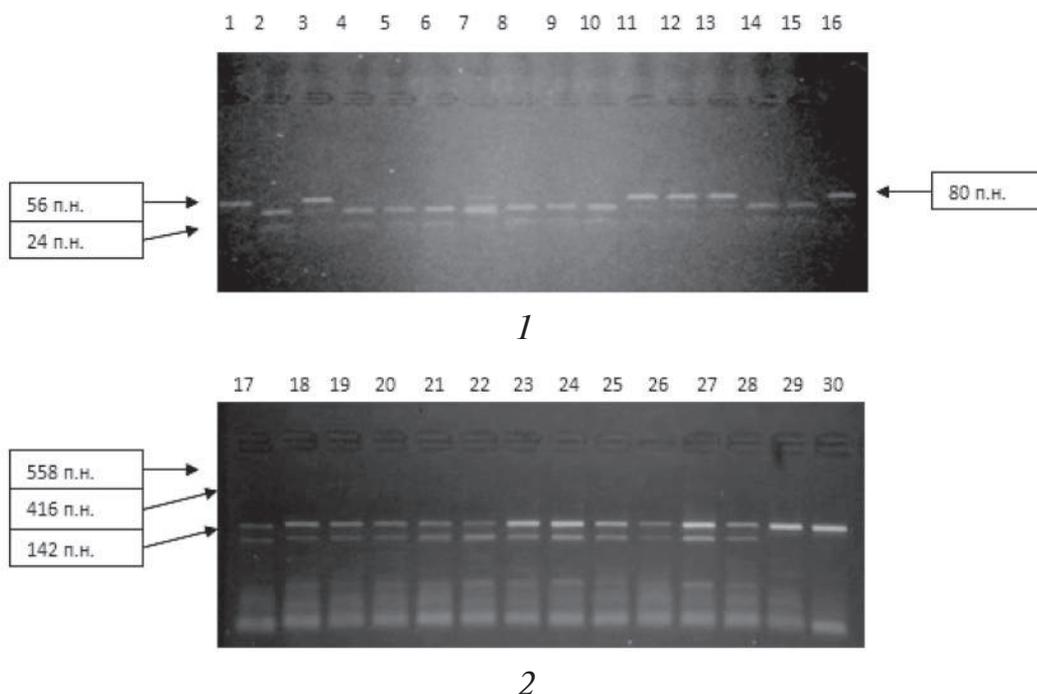
Молекулярно-генетичний аналіз виконано у відділі генетики Інституту розведення і генетики тварин НААН. У роботі використано зразки венозної крові 130 тварин. Виділення ДНК з венозної крові тварин прове-

дено за стандартною методикою [11] за допомогою набору «ДНК-сорб Б» («Амплісенс», Росія). У полімеразно-ланцюговій реакції (ПЛР) використано наступні праймери: F:5'-TAACTGAAAAGAACCCTCTAGTAGC-3' і R:5'-TCGGTAGTTGTTTCCCACTTT-3' (ген *MSTN*); F:5'-GAA GCA GGT CATGTCGATTGGAG-3' і R:5'-CGCCTCTGGTGCCAAGTCTC-3' (ген *PGR*). Суміш для проведення ПЛР у своєму складі містила: 1X буфер для ДНК полімерази, 200 мкмоль суміші трифосфатів («Амплісенс», Росія), 0,5 мкмоль відповідного праймера, 0,6 од. акт. ДНК-полімерази («Fermentas», Литва). Генотипна ДНК додавалась у кількості 50 нг. Загальний об'єм ПЛР-суміші становив 25 мкл. Ампліфікацію проведено у наступних умовах: 5 хв при 95°C («гарячий старт»); 34 цикли: 30 с – 95°C, 30 с – 66°C, 60 с – 72°C; 5 хв – 72°C. Для рестрикційного аналізу використано ендонуклеази рестрикції *AluI* та *Eco31 I* («Fermentas», Литва) при 37°C протягом 12–16 год. Рестрикційні фрагменти розділено у 2%-му і 3%-му агарозному гелі. Аналіз електрофореграм проведено за допомогою програмного забезпечення TotalLab 2.01 [12].

При виконанні популяційно-генетичного аналізу структуру популяції тварин оцінено за законом Харді-Вайнберга. Розраховано індекс фіксації Райта, спостережну гетерозиготність H_o і очікувану гетерозиготність H_e .

Під час статистичного аналізу перевірку розподілу кількісних даних за кожною ознакою на відповідність законам нормального розподілу проведено за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Порівняння середніх арифметичних здійснювали за методом Стюдента. В окремих випадках при проведенні множинних порівнянь вводили поправку Бонферроні. Для оцінювання ступеня впливу генотипу на прояв ознак виконано однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). У разі відхилення розподілу ознак від нормального використано критерій Краскела-Уоліса. Оцінювання розподілу частот алелів та генотипів, рівності рядів розподілу здійснено за допомогою критерію χ^2 Пірсона. Статистичні гіпотези перевірено на рівнях значущості 0,05; 0,01; 0,001. Бази даних та розрахунки виконано у програмах Microsoft Excel 2010, STATISTICA 8.0, GenAlEx 6.0 [13–16].

Результати досліджень, їхнє обговорення. Результати молекулярно-генетичного аналізу поліморфних варіантів С34Т гена *MSTN* та G2464А гена *PGR* наведено на рисунку.



Рестрикційний аналіз гена міостатину (1) і гена прогестеронового рецептора (2) кролів новозеландської білої породи. Електрофореграма продуктів ПЛР, гідролізованих ендонуклеазами рестрикції *AluI* в 3%-му агарозному гелі (1) та *Eco31 I* у 2%-му агарозному гелі (2):
1, 2, 4–10, 12, 14, 15 – гомозиготи ТТ; 3, 11–13, 16 – гетерозиготи СТ;
17 – 28 – гетерозиготи GA; 29, 30 – гомозиготи за алелем А

Отримані частоти алелів С34 і 34Т гена *MSTN* та G2464 і 2464А гена *PGR* подано у табл. 1. Статистично значущої різниці між кролями та кролематками за частотами алелів гена міостатину немає.

1. Частоти алелів С34 і 34Т гена *MSTN* та G2464 і 2464А гена *PGR*

Алелі та гени	Алелі С34 і 34Т гена <i>MSTN</i>			Алелі G2464 і 2464А гена <i>PGR</i>
	♀ *	♂ *	Всього	♀
Стать тварин	♀ *	♂ *	Всього	♀
Частоти алелів:				
Р	0,457	0,5	0,471	0,433
q	0,543	0,5	0,529	0,567
Статистики	* $df=1$, $\chi^2_{st}=3,84$, $\chi^2_f=0,007$, $p>0,05$			

Примітка. ♀ – самки кролів, ♂ – самці кролів, df – число ступенів свободи, χ^2 – критерій Пірсона, p – рівень значущості.

На підставі частот аналізованих алелів отримано теоретичне число генотипів для панміксної популяції кролів. Аналіз фактичного й теоретичного розподілу генотипів кролів новозеландської білої породи за поліморфними варі-

антами гена міостатину показав, що структура популяції відповідає співвідношенню Харді-Вайнберга, фактичний розподіл генотипів статистично значуще не відрізняється від теоретично очікуваного при рівновазі ($df=2$, $\chi^2_{st}=5,99$, $\chi^2_f=0,007$, $p>0,05$) (табл. 2).

2. Розподіл генотипів *CC*, *CT*, *TT* гена *MSTN* у кролів новозеландської білої породи

Розподіл	CC		CT		TT	
	кількість	%	кількість	%	кількість	%
Фактичний	12,0	23,5	24,0	47,1	15,0	29,4
Теоретичний	11,3	22,2	25,4	49,8	14,3	28,0
Статистики	$df=2$, $\chi^2_{st}=5,99$, $\chi^2_f=0,02$, $p>0,05$					

Примітка. df – число ступенів свободи, χ^2 – критерій Пірсона, p – рівень значущості.

Також немає статистично значущої різниці між розподілом частот генотипів у самців та самиць за поліморфним варіантом С34Т гена *MSTN*.

Генотипи самиць кролів новозеландської білої породи за геном прогестеронового рецептора розподілились наступним чином: найбільшу кількість становили гетерозиготи AG, кількість гомозигот за алелем G була у 2,7 раза меншою, а кількість гомозигот за алелем C – в 1,6 раза меншою.

Доведено, що структура популяції за поліморфним варіантом G2464A гена прогестеронового рецептора ($df=2$, $\chi^2_f=0,018$, $p>0,05$) відповідає співвідношенню Харді-Вайнберга (табл. 3).

3. Розподіл генотипів *GG*, *GA*, *AA* гена *PGR* у самок кролів новозеландської білої породи

Розподіл	GG		GA		AA	
	кількість	%	кількість	%	кількість	%
Фактичний	11,0	18,3	30,0	50,0	19,0	31,7
Теоретичний	11,3	18,3	29,5	50,0	19,2	31,7
Статистики	$df=2$, $\chi^2_{st}=5,99$, $\chi^2_f=0,018$, $p>0,05$					

Примітка. df – число ступенів свободи, χ^2 – критерій Пірсона, p – рівень значущості.

Для кожного досліджуваного поліморфізму, С34Т гена *MSTN* та G2464A гена *PGR*, було розраховано очікувану гетерозиготність $H_{оч.}$, спостережну гетерозиготність $H_{спост.}$ та індекс фіксації Райта (табл. 4).

4. Показники генного різноманіття кролів новозеландської білої породи

Ген	Гетерозиготність		Індекс фіксації Райта
	$H_{оч.}$	$H_{спост.}$	
Міостатин	0,471	0,477	-0,55
Прогестероновий рецептор	0,500	0,491	-0,31

Примітка. $H_{спост.}$ – спостережна гетерозиготність; $H_{оч.}$ – очікувана гетерозиготність, F_{is} – індекс фіксації Райта.

Показник F_{is} для обох поліморфних варіантів має від'ємне значення, що демонструє перевагу гетерозигот у популяції за досліджуваними генами.

За умови, що поліморфні варіанти досліджуваних генів не є зчепленими, слід очікувати, що аналізована вибірка буде рівноважною за всіма незалежними комбінаціями. Однак аналіз рядів розподілу генотипів самок кролів показав статистично значущу різницю між теоретично очікуваними частотами та фактичними (табл. 5). Вибірка тварин демонструє відхилення від рівноваги за комбінаціями алелів аналізованих генів.

5. Частоти генотипів за поліморфізмами С34Т гена *MSTN* та G2464A гена *PGR* самок кролів

Генотип	Кількість спостережень		Статистики
	теоретична	фактична	
CC GG	1	4	$df=8,$ $\chi^2_{st}=20,09,$ $\chi^2_f=20,65,$ $p < 0,01$
CC GA	4	2	
CC AA	3	4	
CT GG	2	5	
CT GA	7	4	
CT AA	5	3	
TT GG	2	2	
TT GA	6	3	
TT AA	4	7	

Примітка. df – число ступенів свободи, χ^2 – критерій Пірсона, p – рівень значущості.

Такі відхилення можуть свідчити про те, що носії одних генотипів, ймовірно, мають селективну перевагу, а інші, навпаки, – знижену адаптивність і життєздатність та підлягають впливу добору.

Тестування випадкової вибірки тварин за аналізованими поліморфізмами, проведене після епідемії еймеріозу в популяції кролів, показало, що розподіл та співвідношення генотипів тварин мають статистично значуще відхилення від теоретично очікуваного (табл. 6).

6. Розподіл генотипів СС, СТ, ТТ гена MSTN у самиць кролів новозеландської білої породи

Розподіл	СС		СТ		ТТ	
	кількість	%	кількість	%	кількість	%
Фактичний	48,0	73,9	8,0	12,3	9	13,8
Теоретичний	16,7	25,7	26,0	40,0	22,3	34,3
Статистики	df=2, $\chi^2_{st}=13,82$, $\chi^2_f=79,05$, p<0,001					

Примітка. df – число ступенів свободи, χ^2 – критерій Пірсона, p – рівень значущості.

Майже втричі зменшилась частка тварин-носіїв алеля Т, який зумовлює порушення функціональної активності міостатину. Відомо, що у кролів, хворих на еймеріоз, з розвитком запалювальних процесів у печінці до інших симптомів додаються паралічі кінцівок та шийних м'язів, а також судоми. Можливо, тварини-носії алеля Т, у яких пригнічено ріст та диференціювання м'язів, мають меншу стійкість проти інфекційних захворювань з подібним патогенезом. З цієї точки зору, алель С та генотип СС мають селективну перевагу порівняно з алелем Т та генотипами СТ і ТТ.

Але за результатами однофакторного дисперсійного аналізу було встановлено статистично значущий вплив генотипу кролів новозеландської білої породи за геном міостатину на прояв середньодобових приростів (45%) та на масу парної тушки (35%) (табл. 7).

7. Ступінь впливу генотипу кролів новозеландської білої породи за геном MSTN на прояв ознак м'ясної продуктивності (n=51)

Ознака	η	p
Середньодобові прирости	0,45	<0,05
Маса парної тушки	0,35	<0,05
Витрати корму на 1 кг приросту (60–120 днів)	0,24	>0,05

Примітка. η – частка впливу фактора, n – кількість тварин, p – рівень значущості.

Аналіз середньодобових приростів у самців та кролематок з різними генотипами за геном міостатину показав, що найбільш цікавими виявилися як самці, так і кролематки з генотипом СТ, показники при якому статистично значуще вищі, ніж при генотипах СС і ТТ (табл. 8.)

8. М'ясна продуктивність кролів новозеландської білої породи з різними генотипами за геном *MSTN*

Показник	Генотип					
	СС		СТ		ТТ	
	♂(n=2)	♀(n=17)	♂(n=9)	♀(n=15)	♂(n=3)	♀(n=5)
Середньо-добовий приріст, г	27,5±0,35	33,4±0,12	37,2±0,13	37,6±0,09	30±0,75	32,4±0,49
Статистики СС–СТ	♂ $t_f=9,95$, $t_{st}=4,78$, $df=9$, $p<0,001$ ♀ $t_f=2,57$, $t_{st}=2,04$, $df=30$, $p<0,05$					
СТ–ТТ	♂ $t_f=3,78$, $t_{st}=3,17$, $df=10$, $p<0,01$ ♀ $t_f=2,5$, $t_{st}=2,10$, $df=18$, $p<0,05$					

Примітка. ♀ – самиці кролів, ♂ – самці кролів, t – критерій Стьюдента, df – число ступенів свободи, p – рівень значущості.

Саме тому, на нашу думку, у господарствах найбільш ефективним напрямом селекції кролів новозеландської білої породи за поліморфним варіантом С34Т гена *MSTN* буде добір на користь гетерозигот СТ.

Характер впливу генотипу самок кролів новозеландської білої породи за геном прогестеронового рецептора на прояв ознак відтворної здатності наведено у табл. 9. Виявлено вплив генотипу кролематок за геном *PGR* на таку ознаку, як багатоплідність, але статистично значущої різниці між групами тварин з різними генотипами за цією ознакою не знайдено, що, можливо, пов'язано з невеликим обсягом вибірки.

9. Ступінь впливу генотипу кролематок новозеландської білої породи за геном *PGR* на прояв ознак відтворної здатності (n=60)

Ознака	η	p
Молочність	0,3	>0,05
Багатоплідність	0,39	<0,05

Примітка. η – частка впливу фактора, n – кількість тварин, p – рівень значущості.

Згідно з даними в табл. 9 можна стверджувати, що генотип самиць кролів новозеландської білої породи за геном прогестеронового рецептора має статистично значущий вплив на прояв багатоплідності, що також може бути використано в селекційно-племінній роботі господарств.

Висновки. Найбільш ефективним напрямом селекції кролів новозеландської білої породи за поліморфним варіантом С34Т гена *MSTN* може бути добір на користь гетерозигот СТ. Перспективними є подальші дослідження впливу генотипів за геном *PGR* на відтворну здатність кролематок на прикладі новозеландської білої породи кролів.

Подяка. Автори висловлюють подяку співробітникам відділу генетики Інституту розведення і генетики тварин НААН за підтримку в проведенні експериментальних досліджень.

1. Бала В.І. Технологія виробництва продукції кролівництва і звірівництва: підручник / В.І. Бала [та ін.]. – Вінниця: Нова Книга, 2009. – 272 с.

2. Бащенко М.І. Кролівництво / М.І. Бащенко, О.Ф. Гончар, Є.А. Шевченко. – Черкаси, 2011. – 302 с.

3. Вакуленко І.С. Кролівництво / Вакуленко І.С. – Х., 2008. – 282 с.

4. Piles M. The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits / M. Piles, A. Blasco, M. Pla // Meat Science. – 2005. – № 9. – P. 347–355.

5. Khalil M.H. Methods criteria, techniques, and genetic responses for rabbit selection: review / M.H. Khalil, A.M. Al-Saef // In Proc. 9th World Rabbit Congress. – Italy, Verona, 2008. – P. 1–22.

6. Argente M. Candidate genes analysis for reproductive traits in two lines of rabbit divergently selected for uterine capacity / M. Argente [et al.] // Animal Science. – № 88 (3). – 2009. – P. 1–7.

7. Rafayova A. Detection of MSTN polymorphism in rabbit / A. Rafayova [et al.] // Zootehnie si Biotehnologii, 2009. – № 2. – P. 637–641.

8. Peiro R. Expression of progesterone receptor related to the polymorphism in the PGR gene in the rabbit reproductive tract / R. Peiro [et al.]. – 2010. – № 88(2). – P. 217–220.

9. Fontanezi L. Analysis of candidate genes for meat production traits in domestic rabbit breeds / L. Fontanezi [et al.] // 9th World rabbit congress, Verona, Italy, 2008. – P. 79–84.

10. Інструкція з бонітування кролів. Нормативне виробничо-практичне видання. – Офіц. вид., чинний від 25.09.2003 N 351. – К., 2003. – 86 с.

11. Sambrook J. Molecular Cloning / J. Sambrook, D. Russel. – N. Y. Cold spring Harbor Lab. Press, 2001. – 2222 p.

12. TotalLab. – Режим доступу: <http://www.totallab.com>

13. Вейр Б. Анализ генетических данных / Вейр Б. – М., 1995. – 400 с.

14. Genetic Analysis in Excel. – Режим доступу:

<http://biology.anu.edu.au/GenAlEx>

15. Statistica, StatSoft, Inc. – Режим доступу: <http://www.statsoft.com>

16. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников / Плохинский Н.А. – М.: Колос, 1969. – 255 с.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КРОЛИКОВ НОВОЗЕЛАНДСКОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ ЗА ПОЛИМОРФИЗМОМ С34Т ГЕНА *MSTN* И G2464А ГЕНА *PGR*

Е.А. Шевченко^{1,2}, К.В. Копылов¹, А.М. Федота^{1,3}

Институт разведения и генетики животных (Чубинское, Украина)¹

Черкасская опытная станция биоресурсов ИРГТ НААН (Черкаassy, Украина)²

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина (Харьков, Украина)³

shevchenko.e.a.ser@gmail.com

Представлены результаты генотипирования кроликов новозеландской белой породы по полиморфным вариантам C34T гена миостатина (MSTN) и G2464A гена прогестеронового рецептора (PGR). Распределение частот аллелей изучаемых генов составило: C – 0,471 и T – 0,529, G – 0,433 и A – 0,567. Установлено влияние генотипа кроликов по генам миостатина и прогестеронового рецептора на проявление хозяйственно полезных признаков – среднесуточного привеса, многоплодия, дифференциальной адаптивности к инфекционным заболеваниям. Поэтому в хозяйствах наиболее эффективным направлением селекции кроликов новозеландской белой породы по полиморфным вариантам C34T гена MSTN будет отбор в пользу гетерозигот CT.

Ключевые слова: кролики, ПЦР-ПДРФ, миостатин, прогестероновый рецептор, продуктивность

GENETIC EVALUATION OF NEW ZEALAND WHITE BREED RABBITS BY POLYMORPHISM C34T MSTN GENE AND G2464A PGR GENE

E.A. Shevchenko^{1,2}, K.V. Kopylov¹, O.M. Fedota^{1,3}

Institute of Animal Breeding and Genetics (Chubinske, Ukraine)¹

Cherkaska Experimental station of Bioresources (Cherkasy, Ukraine)²

V.N. Karazin Kharkiv National University (Kharkiv, Ukraine)³

Present results of genotyping New Zealand White breed rabbits by polymorphic variants of C34T myostatin gene (MSTN) and G2464A progesterone receptor gene (PGR). Distribution allele frequencies of the studied genes was – C – 0,471 and T – 0,529, G – 0,433 and A – 0,567. Set influence of genotype rabbits by myostatin and progesterone receptor genes expression on the manifestation of economically useful traits – average daily gain, fertility, differential adaptability to infectious diseases. Therefore, in farms the most efficient destination of selection of New Zealand White breed rabbits by polymorphic variant of C34T MSTN gene is selection in favor of heterozygotes CT.

Key words: rabbits, PCR-RFLP, myostatin, progesterone receptor, productivity



УДК 591.31:636.39

МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ООЦИТ-КУМУЛЮСНИХ КОМПЛЕКСІВ СВІЙСЬКИХ КІЗ (*CAPRA HIRCUS*)

А.Б. ЗЮЗЮН

*Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)
aza.zuzyun@yandex.ua*

*Наведено результати досліджень одержання ооцит-кумулясних комплексів (ОКК) кіз, придатних до подальших біотехнологічних експериментів із застосуванням методу їхнього зажиттєвого оцінювання за станом кумулюсу та ооплазми. Встановлено, що в середньому з одного яєчника кози можна вилучити 35 ОКК, з яких придатні до культивування *in vitro* 77%. Результати цитогенетичного аналізу показали, що хроматин в усіх ОКК, вилучених з яєчників кіз, перебуває на стадії диплоте-ни профазы мейозу I.*

Ключові слова: яєчник, фолікули, ооцит-кумулясні комплекси кіз, морфологічний аналіз, цитогенетичний аналіз

Введення. Дослідження з клонування та отримання трансгенних тварин потребують великої кількості повноцінних ембріонів, одержаних *in vivo* та *in vitro*. Наразі у світі успішно проводяться роботи з отримання ембріонів кіз *in vivo* та їхнього кріоконсервування або трансплантації [21]. Так у Канаді в 2009–2010 рр. шляхом вимивання від кіз донорів отримано 516 ембріонів, із них якісних та придатних до наступних біотехнологічних маніпуляцій – 389. Для подальшої трансплантації було використано 208, кріоконсервовано 181, а

© А.Б. Зюзюн, 2013

20 ембріонів експортували [22]. Успішно виконуються роботи з отримання *in vivo* ембріонів кіз і в Румунії. У 2008–2009 рр. у цій країні отримано 217 ембріонів та здійснено 203 трансплантації [23].

Не зважаючи на значний прогрес у сфері біотехнології, сучасні *in vivo* та *in vitro* методи отримання ембріонів все ще мають істотні недоліки, а саме малий вихід повноцінних ембріонів доїмплантаційних стадій. Однією з основних причин, які знижують відсоток розвитку ранніх ембріонів поза організмом до стадії імплантації, є незадовільна якість ооцит-кумуляусних комплексів (ОКК) [18, 15]. Тому дуже важливим є відбір повноцінних та придатних до подальшого розвитку ооцитів, здатних до відновлення мейозу в умовах *in vitro* та подальшого ембріонального розвитку після запліднення поза організмом [9, 17, 12]. Ця компетенція набувається впродовж фолікулогенезу під час росту яйцеклітини [10]. Досліджено багато чинників, які впливають на компетенцію до розвитку ооцитів поза організмом: розмір фолікула [13], його морфологічні порушення [7], статевий цикл самиці, гормональна стимуляція [7, 17], умови навколишнього середовища, сезон [6], годівля і вік самиці [16]. Нині популярним і зручним способом зажиттєвого оцінювання якості ооцитів на практиці є морфологічне оцінювання на основі товщини і компактності клітин кумулюсу та однорідності ооплазми [17].

Відпрацювання методичних підходів з одержання *in vitro* ембріонів кіз для їхнього подальшого генетичного модифікування потребує великої кількості якісного вихідного біологічного матеріалу у вигляді ооцит-кумуляусних комплексів [11, 20]. Практичне застосування методу одержання ембріонів *in vitro* неможливе без удосконалення й оптимізації методик вилучення, оцінювання та дозрівання ооцитів *in vitro*. Відомо, що у фізіологічно зрілої кози (12–18 міс.) загальна кількість фолікулів, отже, й ооцитів, становить близько 28,6 тис. [5]. Але оскільки кількість фолікулів, що вступили у фазу росту, і кількість антральних фолікулів дуже варіює, необхідно вивчити потенціал яєчників кози як джерела ооцит-кумуляусних комплексів для подальшого культивування та одержання ембріонів.

Кози привертають все більшу увагу в зв'язку з реальною можливістю їхнього використання як біореакторів лікарських білків нового покоління. Наприклад, генетично модифіковані кози здатні продукувати молоко з білком лактоферином, функція якого полягає в захисті новонародженої дитини від кишкових хвороб до становлення в неї власного механізму захисту [11]. Також кози є більш зручним видом сільськогосподарських тварин для відпрацювання поточних біотехнологічних та генетичних методик, ніж велика рогата худоба, завдяки меншій вибагливості до кормів і меншим затратам на утримання. Саме тому цей вид тварин ми використали в своїх дослідженнях та визначили аналіз результатів морфологічного і цитогенетичного дослідження ооцит-кумуляусних комплексів кіз для їхнього подальшого ефективного застосування у біотехнологічних розробках.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження були виконані в лабораторії біотехнології Інституту розведення і генетики тварин НААН. В експериментах

використано шість яєчників та 70 ооцит-кумулясних комплексів кіз. ОКК кіз вилучали з фолікулів яєчників здорових тварин, які досягли статевої зрілості.

Видалення ОКК з антральних фолікулів яєчників здійснювалось шляхом розсічення фолікулів лезом безпечної бритви в середовищі Дюльбеко із 0,075 мг/мл канаміцин сульфату. Для дослідження стану хроматину із ооцитів готували сухоповітряні препарати за модифікованим методом Тарковського [19]. ОКК переносили в 0,26%-й гіпотонічний розчин 3-заміщеного цитрату натрію на 10–15 хв, механічно звільняли їх від клітин кумулюсу і фіксували на сухому знежиреному склі сумішшю метанол-оцтової кислоти (2:1). Фарбування препаратів проводили з використанням 2%-го розчину барвника Гімза. Аналіз одержаних препаратів здійснювали під світловим мікроскопом МБД-15 (об. 10 х, 90 х м. ім., 100 х м. ім., ок. 10 х). Для фотографування застосовували світловий мікроскоп «2ПЗ Відео».

Статистичні гіпотези перевірено за допомогою критерію χ^2 на рівні значущості 0,05 [4].

Результати досліджень, їхнє обговорення. При відборі ОКК для отримання ембріонів *in vitro* одним із критеріїв компетенції до дозрівання *in vitro* слугує структура кумулюсу, який оточує незрілі ооцити [2], адже встановлено, що зовнішній вигляд кумулюсних клітин та структура ооплазми мають вплив на здатність ооцитів до дозрівання *in vitro* [8].

З метою відбору найбільш придатних гамет для повноцінного дозрівання поза організмом та оцінюванням якості незрілих ооцитів ми розподіляли вилучені ОКК на чотири групи на підставі морфологічної оцінки (табл. 1): перша група – ОКК із щільним кумулюсом, неушкодженою прозорою оболонкою та гомогенною невакуолізованою ооплазмою правильної округлої форми; друга група – ОКК із розпушеним кумулюсом та однорідною ооплазмою; третя група – ОКК частково позбавлені клітин кумулюсу, але з однорідною ооплазмою без ознак атрезії; четверта група – атретичні ОКК (денудовані, або з малою кількістю кумулюсних клітин, ооплазма з ознаками дегенерації) (рис. 4).

1. Розподіл ооцитів на підставі морфологічної оцінки по групах

Яєчник кози	Загальна кількість вилучених ОКК, n	Кількість ОКК кози			
		перша група, n (%)	друга група, n (%)	третя група, n (%)	четверта група, n (%)
Правий	30	8 (26,7±8,0)	5 (16,7±6,8)	10 (33,3±8,6)	7 (23,3±7,7)
Лівий	40	12 (30,0±7,2)	6 (15,0±5,6)	13 (32,5±7,4)	9 (22,5±6,6)
Всього	70	20 (28,6±5,4)	11 (15,7±4,3)	23 (32,9±5,6)	16 (22,9±5,0)
χ^2	0,07	0,01	0,02	0,03	0,04
p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Примітка. n – кількість ОКК, p – рівень значущості, χ^2 – критерій Пірсона.

Гамети кіз першої, другої і третьої груп (рис. 1–3) придатні до подальших генетичних досліджень, оскільки, оточені клітинами кумулюсу, мають неушкоджену прозору оболонку і гомогенну ооплазми та без морфологічних ознак просунутої атрезії.

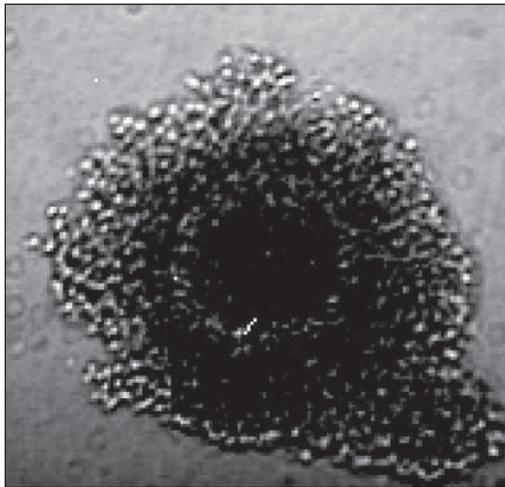


Рис. 1. Зажиттєве фото ОКК кози першої групи. Об.10 х, ок.10 х

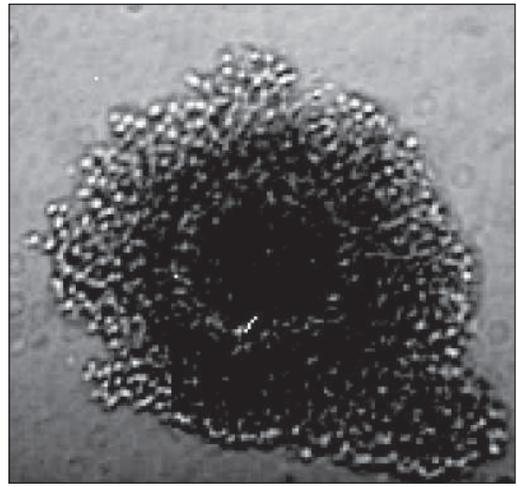


Рис. 2. Зажиттєве фото ОКК кози другої групи. Об.10 х, ок.10 х

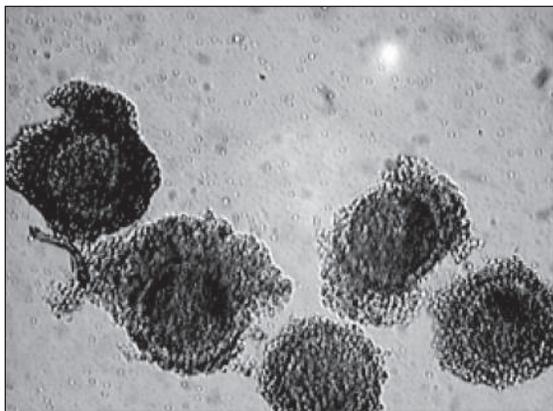


Рис. 3. Зажиттєве фото ОКК кози третьої групи. Об.10 х, ок.10 х

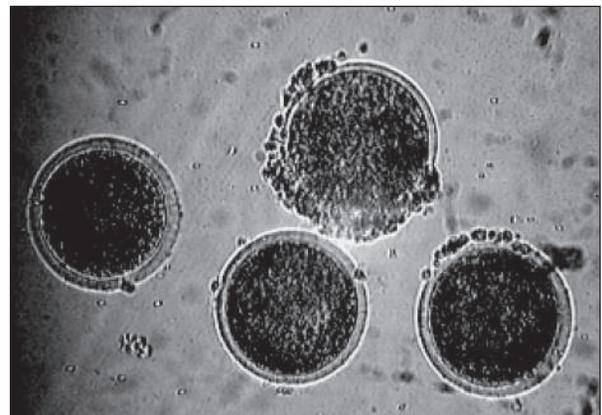


Рис. 4. Зажиттєве фото ОКК кози четвертої групи. Об.10 х, ок.10 х

Нами виявлено, що в середньому з одного яєчника кози можна вилучити 35 ОКК, з яких придатні до культивування *in vitro* 77 %. Дану морфологічну оцінку ооцитів, отриману на основі товщини і компактності клітин кумулюсу та однорідності ооплазми, повністю підтвердили результати цитогенетичного аналізу препаратів ооцитів.

Статистично значущої різниці між загальною кількістю ооцитів, вилучених із правого та лівого яєчників кіз, не виявлено (табл. 1). Також не встановлено статистично значущої різниці між кількістю компетентних до подальшого розвитку ооцитів, отриманих з лівого та правого яєчників (табл. 1).

Цитогенетичний аналіз визначив, що хроматин в усіх ОКК, вилучених з яєчників кіз, перебуває на стадії диплотени профазі мейозу I (табл. 2).

2. Цитогенетичний аналіз препаратів ооцитів, вилучених з яєчників кіз

Яєчник кози	Всього ооцитів, n	Хроматин на стадії мейозу – диплотена, n (%)			Дегенерація хроматину, n (%)
		дифузна	фібрилярна	видимі біваленти	
Правий	30	18 (60,0±8,9)	3 (10,0±5,5)	9 (30,0±8,4)	8 (26,7±8,0)
Лівий	40	21 (52,5±7,9)	14 (35,0±7,5)	5 (12,5±5,2)	7 (17,5±6,0)
Всього	70	39 (55,7±5,9)	17 (24,3±5,1)	14 (20,0±4,8)	15 (21,4±4,9)
χ^2	0,07	0,15	4,55	2,28	0,40
p	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05

Примітка. n – кількість ооцитів, p – рівень значущості, χ^2 – критерій Пірсона.

Не виявлено клітин на більш просунутих стадіях мейозу (діакінез, метафаза I), наявність яких свідчила б про початок дегенеративних змін хроматину гамет [1]. Найбільша кількість хроматину ооцитів кіз (56%) перебувала на стадії диплотени дифузної (рис. 6). Статистично значущу різницю виявлено лише між кількістю ооцитів з правого та лівого яєчників (табл. 2), хроматин яких знаходився у фібрилярному стані (рис. 5), але це не впливає на ефективність подальшого розвитку ооцитів *in vitro* через повноцінність хроматину на кожній із стадій диплотени профазі I мейозу. Клітин на більш просунутих стадіях мейозу (діакінез, метафаза I), наявність яких свідчила б про початок дегенеративних змін хроматину гамет, не виявлено [1, 3].

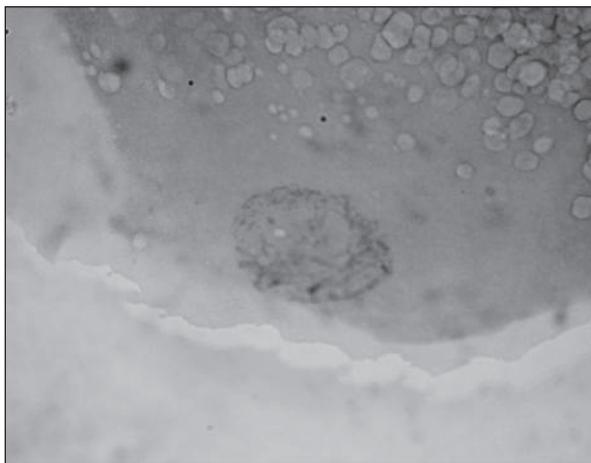


Рис. 5. Стадія фібрилярної диплотени профазі I мейозу ооциту кози. Зб. $\times 900$ разів

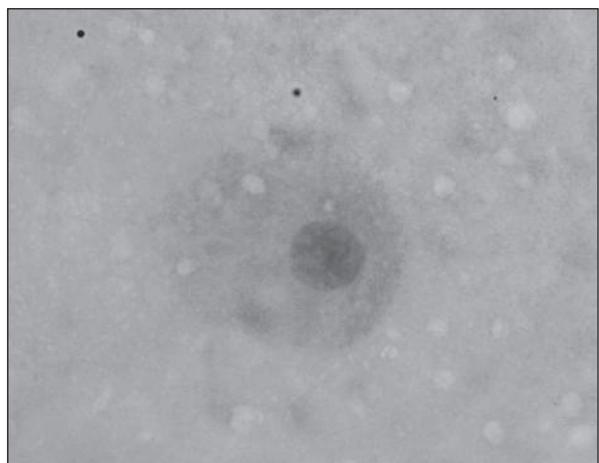


Рис. 6. Стадія дифузної диплотени профазі I мейозу ооциту кози. Зб. $\times 900$ разів

Висновки. Впроваджено метод зажиттєвого розподілу ооцит-кумулюсних комплексів, отриманих із яєчників кіз, за станом кумулюсу та ооплазми.

Хроматин усіх ооцит-кумулясних комплексів, вилучених з яєчників кіз, перебуває на стадії диплотени профазі мейозу I, а найбільша кількість хроматину ооцитів перебувала на стадії диплотени дифузної.

Доведено перспективність ембріологічних і генетичних досліджень свійських кіз (*Capra hircus*) для подальшого збереження та раціонального використання генофонду цього виду сільськогосподарських тварин.

1. Графодатский А.С. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих / А.С. Графодатский, С.И. Раджабли // Атлас. – Н.: Наука, 1988. – 128 с.

2. Ковтун С.І. Перспективи використання наукових розробок з біотехнології в селекційній роботі / Ковтун С.І. // Перспективи використання досягнень генетики і біотехнології у практичній селекції тварин: матеріали творч. дискусії. – К.: Аграрна наука, 2006. – С. 17–31.

3. Ковтун С.І. Методика одержання доімплантаційних зародків великої рогатої худоби та свиней поза організмом / С.І. Ковтун, Д.М. Басовський, Ю.В. Куновський // Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології у тваринництві: наук. зб. – К.: Аграрна наука, 2005. – С. 191–200.

4. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для биологич. спец. вузов. – 3-е изд., перераб. и доп. / Лакин Г.Ф. – М.: Высш. школа, 1980. – 293 с.

5. Яблонський В.А. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології / В.А. Яблонський, С.П. Хомин, Г.М. Калиновський. – Вінниця, 2006. – 592 с.

6. Al-Katanani Y.M. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows / Y. M. Al-Katanani, F.F. Paula-Lopes. – Journal of Dairy Science. – 2002. – № 85. – P. 390–396.

7. Blondin P.B. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes / P.B. Blondin, M.A. Sirard // Molecular Reproduction and Development. – 1995. – № 41. – P. 54–62.

8. Chin R.C. Effects of cumulus cells on male pronuclear formation and subsequent early development of bovine oocytes *in vitro* / R.C. Chin, K. Niwa, M.A. Sirard // Theriogenology. – 1994. – V. 41. – P. 1499–1509.

9. Crozet N.B. Ultrastructure of *in vivo* fertilization in the goat / N.B. Crozet, M.C. Theron, P.E. Chemineua / Gamete Res. – 1987. – № 18. – P. 191–199.

10. Eppig J.J. Oocyte–somatic cell communication in the ovarian follicles of mammals / Eppig J.J. – Semin. Dev. Biol. – 1994. – № 5. – P. 51–59.

11. Cellular and molecular mechanisms regulating oocyte quality and the relevance for farm animal reproductive efficiency / F. Gandolfi [et al.] // Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. – 2005. – № 24 (1). – P. 413–423.

12. Krisher R.L. The effect of oocyte quality on development / Krisher R.L. // Journal of Animal Science. – 2004. – № 82. – P. 14–23.

13. Song H.B. Iritani A. In vitro fertilization of goat follicular oocytes with epididymal spermatozoa capacitated in a chemically defined medium / H.B. Song, A.B. Iritani. – AAAP Anim Sci Cong, Seoul, Korea. – 1985. – № 1. – P. 463.

14. *Loneragan P.C.* Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture *in vitro* / P. C. Lonergan, P. H. Monaghan, D.F. Rizos // *Molecular Reproduction and Development*. – 1994. – № 37. – P. 48–53.

15. *Lucy M.C.* Fertility in high-producing dairy cows: reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement / M.C. Lucy // *Reproduction Supplements*. – 2007. – № 64. – P. 237–254.

16. *Consequences* of bovine oocyte maturation, fertilization or early embryo development *in vitro* versus *in vivo*: implications for blastocyst yield and blastocyst quality / D.F. Rizos [et al.] // *Mol. Reprod. Dev.* – 2002. – № 61. – P. 234–248.

17. *Contribution* of the oocyte to embryo quality / M.A. Sirard [et al.] // *Theriogenology*. – 2006. – № 65. – P. 126–136.

18. *Effect* of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on *in vitro* oocyte development in dairy cows / S.M. Snijders [et al.] // *Theriogenology*. – 2000. – № 53. – P. 981–989.

19. *Tarkowski A.K.* An air-drying method for chromosome preparation from mouse eggs / Tarkowski A.K. // *Cytogenetics*. – 1966. – Vol. 5, № 3. – P. 394–400.

20. *Wassarman M.P.* The mammalian ovum / Wassarman M.P. // *In the Physiology of Reproduction*. – New York: Raven Press. – 1988. – P. 69–102.

21. www.iets.org Міжнародне товариство ембріотрансплантації (IETS).

22. www.ceta/acte Канадська асоціація ембріотрансплантації (CETA).

23. www.tours.inra.fr Європейська асоціація ембріотрансплантації (AETE).

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ООЦИТ-КУМУЛЮСНЫХ КОМПЛЕКСОВ ДОМАШНИХ КОЗ (*CAPRA HIRCUS*)

А.Б. Зюзюн

Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)

*Представлены результаты исследований получения ооцит-кумулясных комплексов коз (ОКК) с помощью метода их прижизненной оценки по состоянию кумулюса и ооплазмы, пригодных к дальнейшему использованию в биотехнологических экспериментах. Установлено, что из одного яичника козы можно получить в среднем 35 ОКК, из которых 77% будут пригодными для культивирования *in vitro*. Результаты цитогенетического анализа показали, что хроматин всех ОКК, полученных из яичников коз, находится на стадии диплолены профазы мейоза I.*

Ключевые слова: яичник, фолликулы, ооцит-кумулясные комплексы коз, морфологический анализ, цитогенетический анализ

MORPHOLOGICAL AND CYTOGENETICAL ANALYSIS OF GOATS' OOCYTE-CUMULUS COMPLEXES (*CAPRA HIRCUS*)

A.B. Zuyzuyun

Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS (Chubinskoe, Ukraine)

The results of study of the possibility of obtaining of goats' oocyte-cumulus complexes (OCC) suitable for further use in biotechnological experiments with applying the methodology of their lifetime assessment for the state of cumulus and ooplasm were given. It is proved that in average out of one goats' ovary can be obtained 35 OCC, from which 77% are suitable for cultivation in vitro. Results of cytogenetic analysis showed that chromatin in all OCC, obtained from the goats' ovaries was on the diplotene prophase of I stage of meiosis.

Key words: ovary, follicles, oocyte-cumulus complexes of goats, morphological analysis, cytogenetic analysis



УДК 57.089.3:636.2.082:615.3

ЛІПІДНИЙ ПРОФІЛЬ У КРОВІ КОРІВ-ДОНОРІВ ЗА СТИМУЛЯЦІЇ СУПЕРОВУЛЯЦІЇ ГОНАДОТРОПІНОМ СЖК СПІЛЬНО З НЕЙРОТРОПНО-МЕТАБОЛІЧНИМ ПРЕПАРАТОМ

В.І. ШЕРЕМЕТА, О.П. ВЕРГЕЛЕС

*Національний університет біоресурсів та природокористування України (Київ, Україна)
sheremetavi@ukr.net*

Установлено, що у крові корів-донорів під час росту на яєчниках фолікулів, індукованого введенням 3000 МО екзогенного гонадотропіну сироватки жеребної кобили (СЖК) «Folligon®», спостерігається зменшення концентрації холестеролу, ХЛВЩ, ХЛНЩ та збільшення вмісту триацилгліцеролу та ХЛДНЩ. Нейротропно-метаболический препарат «Стимулін Вет», введений донорам під час стимуляції гонадотропіном СЖК супер-овуляції, інтенсифікує процеси зменшення вмісту холестеролу, ХЛВЩ та ХЛНЩ, не зумовлюючи змін у концентрації ХЛДНЩ. У донорів через 48 год (12-й день статевого циклу) після введення гонадотропіну СЖК між вмістом холестеролу та холестеролу ліпопротеїдів високої щільності спостерігається прямий зв'язок ($r = 0,827$).

© В.І. Шеремета, О.П. Вергелес, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

Ключові слова: корова-донор, суперовуляція, гонадотропін СЖК, холестерол, нейротропно-метаболический препарат

Введення. Гормональна індукція поліфолікулогенезу та множинної овуляції в методі трансплантації ембріонів є планомірним втручанням у фізіологічні процеси відтворення тварин з метою прискореного розмноження цінних генетичних ресурсів для підвищення селекційного процесу.

Вплив неадекватних середовищних факторів і, зокрема, індукторів суперовуляції зумовлюють порушення впорядкованості та узгодження метаболічних процесів і гормонального статусу організму тварин на всіх етапах формування поліовулятивної реакції. Це, в свою чергу, породжує негативні морфофункціональні зміни в репродуктивних органах самиць і є однією із причин збільшення дегенерованих ембріонів, а також їхніх втрат під час видобування нехірургічним методом.

Тому важливим аспектом сучасної біотехнології та фармакології є розробка біологічно активних препаратів із унікальною, різносторонньою біологічною активністю і фармакобіологічними можливостями в плані метаболічної корекції функціонального стану фізіологічно навантажених систем організму тварин.

Передумовою досліджень слугували позитивні результати впровадження біологічно активного препарату «Глютам», розробленого на основі натрієвої солі глутамінової кислоти. Даний препарат здійснює позитивний вплив на відтворну функцію корів, зокрема поліпшує результати індукції множинної овуляції за використання фолікулостимулювального препарату [1, 2].

Враховуючи метаболічно корегуючі, адаптогенні ефекти і комплексуютьвальні можливості екологічно безпечних та економічно доступних бурштинової і глутамінової кислот, для покращання результатів суперовуляції у корів-донорів було розроблено новий біологічно активний препарат «Стимулін Вет».

У результаті проведених досліджень було встановлено, що за індукції гонадотропіном СЖК суперовуляції у корів-донорів внутрішньом'язове введення з 8-го по 11-й день статевого циклу препарату «Стимулін Вет» у дозі 20 мл сприяє тенденції до збільшення рівня поліовуляції та кількості придатних до пересадження ембріонів і зменшує число неовульованих фолікулів [3].

Для обґрунтування модифікуючого впливу компонентів «Стимулін Вет» на процеси тканинного метаболізму, що в кінцевому результаті зумовили підвищення ефективності індукованої поліовулятивної реакції, було проведено біохімічні дослідження ліпідного профілю крові донорів.

У загальній кількості ліпідів плазми крові великої рогатої худоби 54% припадає на ефірозв'язаний холестерин [4], участь якого в обмінних процесах залежить від вмісту ліпопротеїнів дуже низької (ЛПОНЩ), низької (ЛПНЩ) та високої щільності (ЛПВЩ). Останні завдяки своїй будові та функції виконують особливу роль у регуляції обміну ліпідів. Вони складаються з 50% білка, 25 – фосфоліпідів та 20% холестерину [5]. Основним місцем синтезу ЛПВЩ є печінка та кишечник [6].

До основних функцій цих ліпопротеїнів належить транспортування ефірів холестерину, фіксація надлишкового холестерину з поверхні периферичних клітин, каталізація його до ефірів та передача іншим ліпопротеїнам або транспортування у печінку. Крім того, вони беруть участь в обміні апопротеїнів різного класу, віддаючи апопротеїн С новоствореним хіломікронам [7].

Дефіцит деяких метаболітів у проміжному обмінному процесі є стимулом інгібування відновлення естральних циклів у корів у період лактації незалежно від вмісту гормональних регуляторів у крові. Зокрема, така важлива роль в ініціалізації естральної циклічності належить стероїдним гормонам (прогестерон і естроген), попередником яких є холестерол.

Мета дослідження полягала у вивченні динаміки обміну загального холестеролу та його ліпопротеїдних фракцій у крові під час стимуляції суперовуляції в корів-донорів гонадотропіном СЖК «Folligon®» разом з біологічно активним препаратом «Стимулін Вет».

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проводилось у ВП НУБіП НДГ «Ворзель» та «Великоснітинське НДГ ім. О.В. Музиченка» на коровах-донорах української чорно-рябої молочної породи.

Для досліду було відібрано 10 корів-донорів із живою масою 470–560 кг та з надоєм за найвищу лактацію 4400–5700 кг, що перебували в однакових умовах годівлі та утримання.

У контрольних і дослідних (по 5 гол. у групі) донорів суперовуляцію стимулювали за схемою PMSG «Folligon®»-PGF_{2α}. «Естрофан®».

Дослідним донорам ін'єктували внутрішньом'язово на 8-, 9-, 10-, 11-й дні статевого циклу препарат «Стимулін» в одноразовій дозі 20 мл (табл. 1).

1. Схема стимуляції суперовуляції у корів-донорів та відбору проб крові

День статевого циклу	Введення гормонів та виконання біотехнологічних робіт
8	Відбір проб крові із яремної вени в корів-донорів
8, 9, 10, 11	Ін'єкції біологічно активного препарату «Стимулін»
10	Парантеральне введення гонадотропіну СЖК «Folligon®» – 3000 М.О
12	Відбір проб крові із яремної вени до введення препарату «Естрофан®»
12, 13	Внутрішньом'язові ін'єкції аналога простагландину F _{2α} «Естрофан®» – 2 мл
14 (0)	Штучне осіменіння проводили заморожено-відталою спермою одного бугая, тричі, в кожній дозі було не менше 30 млн спермійів з прямолінійно-поступальним рухом
1	
7	Відбір проб крові із яремної вени у корів-донорів до одержання ембріонів

Ембріони вимивали на 7-й день статевого циклу нехірургічним методом за загальноприйнятою методикою. Кількісну та якісну оцінку ембріонів проводили мікроскопічним методом за морфологічними ознаками, з урахуванням стадії розвитку, за 4-бальною системою оцінки: «відмінні», «добрі», «задовільні», «непридатні» ембріони.

Відбір крові у донорів проводили до обробки їх гормонами (базовий вміст), після введення гонадотропіну та «Стимуліну Вет» і перед вимиванням ембріонів.

За допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора Stat Fax 1904 (Awareness Technology, USA) визначали показники ліпідного профілю сироватки крові донорів, використовуючи наступні методи: холестерол загальний – холестеролоксидазний; триацилгліцерол – ферментативний, гідроліз з ліпазами; холестерол ліпопротеїдів високої щільності (ХЛВЩ) – преципітація ліпопротеїдів з фосфотанговою кислотою та хлоридом магнію. За допомогою розрахунків визначали вміст холестеролу ліпопротеїдів низької щільності (ХЛНЩ) та холестеролу ліпопротеїдів дуже низької щільності (ХЛДНЩ).

Результати досліджень, їхнє обговорення. Статистичний аналіз проведено загальноприйнятими методами. Порівняльний аналіз динаміки вмісту холестеролу та його фракцій, а також триацилгліцеролу в крові піддослідних донорів дав можливість встановити низку закономірностей, пов'язаних як зі введенням гонадотропних та лютеолітичних гормонів, так і з ін'єктуванням препарату «Стимулін Вет».

Аналіз даних, наведених у табл. 1, показує, що донори дослідної та контрольної груп на 8-, 12- і 7-й день статевого циклу мали в крові майже однаковий вміст холестеролу. На 12-й день статевого циклу в донорів обох груп спостерігалось зниження концентрації холестерину відносно вихідного рівня (8-й день) на контролі на 9% та більшою мірою у дослідних – на 14% (табл. 2).

2. Ліпідний профіль у крові піддослідних корів-донорів, ммоль/л

Показник	День статевого циклу					
	Контроль, n = 5			Дослід, n = 4		
	8	12	7	8	12	7
Холестерол	3,78±0,19	3,44±0,18	3,62±0,18	3,75±0,21	3,22±0,26	3,55±0,13
Триацил-гліцероли	0,21±0,06	0,25±0,02	0,21±0,03	0,23±0,04	0,30±0,03	0,22±0,02
ХЛВЩ	1,36±0,72	1,34±0,15	1,38±0,18	1,45±0,17	1,13±0,09 ^a	1,15±0,13 ^б
ХЛНЩ	1,91±0,17	1,80±0,07	2,0±0,06 ^в	2,06±0,16	1,81±0,23	2,11±0,18
ХЛДНЩ	0,25±0,03	0,29±0,02	0,24±0,03	0,24±0,02	0,28±0,02	0,23±0,03

Примітка. n – об'єм вибірки, p – рівень значущості, ^ap ≤ 0,01 – в групі між 8-м і 12-м днями статевого циклу; ^бp ≤ 0,01 – в групі між 8-м і 7-м днями статевого циклу; ^вp ≤ 0,05 – в групі між 12-м і 7-м днями статевого циклу.

Вміст триацилгліцеролу в крові донорів контрольної та дослідної груп був також майже однаковий на 8-й і 7-й день статевого циклу. У донорів обох груп між 8-м і 12-м днями статевого циклу концентрація триацилгліцеролу збільшилась, але з різною інтенсивністю. Так у контрольних тварин вміст даного інгредієнта крові зріс на 19%, тоді як у дослідних – на 30,4%.

У крові контрольних донорів вміст ХЛВЩ у всі дні статевого циклу був майже однаковий. У дослідних тварин його концентрація на 12-й день статевого циклу зменшилась на 18,5 і 28,3% ($p \leq 0,01$) порівняно з контрольною групою та базовим рівнем. При цьому низька концентрація ХЛВЩ у крові тварин, яким вводили «Стимулін Вет», залишилась і на 7-й день статевого циклу. У цей день різниця між рівнем даного інгредієнта крові з контролем та 8-м днем статевого становила 20 і 26,1% ($p \leq 0,01$).

Доведено, що жовте тіло на яєчниках корів, починаючи з 5-го дня статевого циклу, значно збільшує секрецію прогестерону [9, 10], похідним якого є холестерол ліпопротеїнів високої щільності. Вміст прогестерону змінюється залежно від рівня ХЛВЩ. Так *in vitro* було встановлено, що клітини жовтого тіла збільшують продукцію прогестерону одночасно зі зростанням концентрації ХЛВЩ [11]. Тому вірогідне зменшення на 7-й день статевого циклу даного ліпопротеїну побічно свідчить про більш інтенсивний процес синтезу прогестерону в лютеїальних клітинах жовтого тіла яєчника дослідних донорів, що повинно позитивно вплинути на якість доїмплантаційних ембріонів.

Динаміка вмісту ХЛНЩ у крові піддослідних донорів у різні дні статевого циклу була аналогічною з холестеролом. Після 8-го дня статевого циклу в крові донорів рівень ХЛНЩ знизився, а на 7-й день знову підвищився. У контрольних донорів вміст ХЛНЩ на 7-й день вірогідно збільшився на 11,1%, а у дослідних невірогідно, через більшу похибку, на 16,6%. Тобто у дослідних донорів зміна концентрації ХЛНЩ залежала від індивідуальних особливостей, очевидно, зумовлених реакцією на введення нейротропно-метаболического препарату.

У донорів обох груп вміст у крові ХЛДНЩ змінювався в досліджувані дні статевого циклу паралельно з динамікою триацилгліцеролу. При цьому між групами не спостерігалось різниці в інтенсивності зміни його концентрації. Так на 12-й день статевого циклу вміст ХЛДНЩ на контролі та в досліді збільшився на 16 і 16,6% порівняно з 8-м днем, а потім на 7-й день зменшився на 20,8 і 21,7% відповідно.

Враховуючи, що між дослідною і контрольною групами статистично значущої різниці між вмістом холестеролу та його фракцій у різні дні статевого циклу не спостерігалось, було вирішено їх об'єднати для встановлення загальної динаміки концентрації досліджуваних інгредієнтів під час стимуляції гонадотропіном суперовуляції в корів-донорів.

Дані, наведені в табл. 2, підтверджують результати порівняльного аналізу, проведеного щодо кожної групи. Так на 12-й день статевого циклу в крові донорів вірогідно зменшувався вміст холестеролу, ХЛВЩ, ХЛНЩ і збільшувалась концентрація триацилгліцеролу та ХЛДНЩ. Причому в цей день найбіль-

шу варіабельність мали інгредієнти, концентрація яких зростала, що свідчить про індивідуальні особливості їхнього синтезу в організмі корів-донорів під час фолікулогенезу (табл. 3).

3. Ліпідний профіль у крові піддослідних корів-донорів, ммоль/л

Показник	День статевого циклу, n = 9					
	8		12		7	
	M±m	Cv%	M±m	Cv%	M±m	Cv%
Холестерол	3,76±0,06	4,96	3,34±0,07 ^a	7,02	3,6±0,05 ^{бб}	4,28
Триацилгліцерол	0,22±0,02	23,05	0,28±0,01 ^a	20,7	0,23±0,01 ^б	14,6
ХЛВЩ	1,54±0,06	12,6	1,26±0,06 ^{aa}	14,06	1,27±0,06 ^б	15,04
ХЛНЩ	1,98±0,05	8,7	1,8±0,04 ^a	8,25	2,05±0,04 ^{бб}	6,71
ХЛДНЩ	0,24±0,01	10,33	0,39±0,1	82,1	0,23±0,01 ^б	11,8

Примітка. p – рівень значущості, ^ap ≤ 0,05, ^{aa}p ≤ 0,01 – між 8-м і 12-м днями статевого циклу; ^бp ≤ 0,01 – між 12-м і 7-м днями статевого циклу; ^{бб}p ≤ 0,05 – між 8-м і 7-м днями статевого циклу.

Отже, у корів-донорів під час росту на яєчниках фолікулів, індукованого введенням екзогенного гонадотропіну, спостерігається зменшення концентрації холестеролу, ХЛВЩ, ХЛНЩ та збільшення вмісту триацилгліцеролу і ХЛДНЩ. Введення донорам у цей період нейротропно-метаболичного препарату інтенсифікує ці процеси, не зумовлюючи змін у концентрації ХЛДНЩ.

Отримані коефіцієнти кореляції показали, що в досліджувані дні статевого циклу вміст холестеролу мав прямий зв'язок з ХЛВЩ і ХЛНЩ та зворотний з ХЛДНЩ і триацилгліцеролом. При цьому на 12-й день статевого циклу в корів-донорів вміст холестеролу вірогідно у високому ступені корелює з ліпопротеїдами високої щільності (табл. 4).

4. Коефіцієнти кореляції між показниками ліпідного профілю у корів-донорів

Кореляція між вмістом холестеролу та	Дні статевого циклу, n=9		
	8	12	7
ХЛВЩ	0,534	0,827*	0,570
ХЛНЩ	0,448	0,619	0,297
ХЛДНЩ	-0,655	-0,240	-0,625
Триацилгліцеролом	-0,383	0,030	-0,533

Примітка. p – рівень значущості, *p ≤ 0,01.

Вірогідне зменшення вмісту ХЛВЩ в крові дослідних донорів на 12-й день статевого циклу та його вірогідний прямий зв'язок з концентрацією холестеролу дають змогу вважати, що його зменшення в цей день зумовлено більш

інтенсивним синтезом ліпопротеїду, ніж у контрольних тварин. Відомо, що ліпопротеїд даної фракції спроможний проникати через базальну мембрану та концентруватися у внутрішньофолікулярній рідині і є потужним донатором етерифікованого холестерину для стероїдогенезу в фолікулах [7, 8]. Крім того, інтенсивність біосинтезу холестерину, його транспорт підпорядковані багатогранній регуляції як із боку різноманітних внутрішньоклітинних метаболітів, так і гормонів, зокрема і статевих [12–14].

Тому більш інтенсивне зниження концентрації холестеролу та ХЛВЩ може побічно свідчити, що препарат «Стимулін Вет» за індукції гонадотропіном СЖК суперовуляції у корів-донорів деякою мірою стимулював біохімічні процеси стероїдогенезу. Інтенсифікація синтезу естрогенів під час поліфолікулогенезу, можливо, зумовила вищий пік лютропіну. Також інтенсивніше використання загального холестерину та перерозподіл його ліпопротеїнових фракцій у сироватці крові, на нашу думку, могли також диференційовано вплинути на метаболізм та ріст клітин теки, гранульози фолікула, а також і лютеліальних клітин. Усі ці морфофункціональні зміни в організмі донорів, яким вводили препарат нейротропної метаболічної дії, і були підґрунтям для поліпшення рівня поліовулятивної реакції на 23,9%, зменшення в 2,7 раза кількості неовульованих фолікулів та збільшення на 27,6% придатних до пересадження ембріонів [3].

Таким чином, примусова зміна гормонального статусу в організмі донорів за стимуляції множинної овуляції вплинула на обмін холестеролу та спектр ліпопротеїнів. Використання біологічно активного препарату «Стимулін Вет» за індукції гонадотропіном СЖК суперовуляції у корів-донорів інтенсифікувало біохімічні процеси обміну холестерину та розподілу фракцій ліпопротеїнів під час поліфолікулогенезу, що сприяло покращанню поліовулятивної реакції.

Висновки. У крові корів-донорів під час росту на яєчниках фолікулів, індукованого введенням 3000 М.О. екзогенного гонадотропіну СЖК «Folligon®», спостерігається зменшення концентрації холестеролу, ХЛВЩ, ХЛНЩ та збільшення вмісту триацилгліцеролу і ХЛДНЩ.

Нейротропно-метаболічний препарат «Стимулін Вет», введений донорам під час стимуляції гонадотропіном СЖК суперовуляції, інтенсифікує процеси зменшення вмісту холестеролу, ХЛВЩ та ХЛНЩ, не зумовлюючи змін у концентрації ХЛДНЩ.

У донорів через 48 год (12-й день статевого циклу) після введення гонадотропіну СЖК між вмістом холестеролу та холестеролу ліпопротеїдів високої щільності спостерігається вірогідний прямий зв'язок ($r = 0,827$).

У подальших дослідженнях бажано дослідити динаміку вмісту статевих гормонів і їхній взаємозв'язок з ліпідним профілем та показниками суперовуляції у корів-донорів за спільного введення гонадотропіну СЖК і нейротропно-метаболічного препарату.

1. *Шеремета В.І.* Теоретичне обґрунтування та розробка методів підвищення ефективності біотехнології відтворення великої рогатої худоби: дис. на здобуття наук. ступеня д-ра с.-г. наук : 03.00.20 / Шеремета В.І. — К., 1999. — 380 с.
2. *Рекомендації щодо стимуляції суперовуляції у корів-донорів з використанням біологічно активних речовин / В.І. Шеремета [та ін.].*— К.: Товариство «Знання України», 1999. — 10 с.
3. *Вергелес О.П.* Використання біологічно активного препарату в схемі стимуляції поліовуляції у корів-донорів / О.П. Вергелес, В.І. Шеремета // *Ветеринарна медицина України.* — 2009. — № 3. — С. 22–23.
4. *Стояновский С.В.* Биоэнергетика сельскохозяйственных животных: особенности регуляции / Стояновский С.В. — М.: Агропромиздат, 1985. — 223 с.
5. *Климов А.Н.* Липопротеиды плазмы крови, их функция и метаболизм / Климов А.Н. // *Биохимия липидов и их роль в обмене веществ.* — М.: Наука, 1972. — С. 45–75.
6. *Кармолиев Р.Х.* Электрофоретические свойства липопротеидов сыворотки крови беременных и лактирующих коров / Р.Х. Кармолиев, А.Н. Климов // *Проблемы молекулярной биологии и патологии.* — Московская ветеринарная академия. — 1979. — Т. 106. — С. 10–20.
7. *Purpione D.L.* Implications of Unique Features of Blood Lipid Transport in the Lactating / Purpione D.L. // *Cow. J. Dairy Sci.* — 1978. — 61, 5. — P. 651–659.
8. *Кармолиев Р.Х.* Молекулярные механизмы метаболизма липопротеидов сыворотки крови в организме лактирующих коров / Кармолиев Р.Х. // *Доклады ВАСХНИЛ.* — 1987. — № 7. — С. 26–29.
9. *Иванова О.М.* Радиоиммунологическое определение содержания прогестерона в сыворотке крови коров в течение нормального полового цикла и при фолликулярных кистах яичников / Иванова О.М. // *Актуальные вопросы акушерско-гинекологической и хирургической патологии с.-х. животных.* — Московская ветеринарная академия. — М., 1982. — С. 24–27.
10. *Бриль Э.Е.* Радиоиммунологический метод определения концентрации прогестерона в крови коров / Э.Е. Бриль, Ю.Х. Мараховский // *Вестник с.-х. науки.* — 1976. — № 10. — С. 120–124.
11. *Carroll D.J.* Progesterone production by cultured bovine luteal cells in the presence of bovine low and high density lipoproteins purified by heparin affinity chromatography: {Abstr.} 86 th Annu. Meet. Amer. Dairy Sci. Assoc. (ADSA), Logan, Utah, Aug. 12–15, 1991 / D.J. Carroll, R.R. Grummer // *J. Dairy Sci.* — 1991. — Suppl. 1. — P. 195–199.
12. *Климов А.Н.* Типы гиперлиппротеинемий, их связь с атеросклерозом и лечение / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева // *Кардиология.* — 1972. — № 6. — С. 130–133.
13. *Холодова Ю.Д.* Липопротеины крови / Ю.Д. Холодова, П.П. Чаяло. — К.: Наук. думка, 1990. — 208 с.
14. *Кучеренко Н.Е.* Молекулярные механизмы гормональной регуляции обмена веществ / Н.Е. Кучеренко, Я.Л. Германюк, А.Н. Васильев. — К.: Вища школа, 1986. — 248 с.

ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ КОРОВ-ДОНОРОВ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ СУПЕРОВУЛЯЦИИ ГОНАДОТРОПИНОМ СЖК СОВМЕСТНО С НЕЙРОТРОПНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТОМ

В.И. Шеремета, О.П. Вергелес

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
(Киев, Украина)*

Установлено, что в крови коров-доноров во время роста на яичниках фолликулов, индуцированного введением 3000 МЕ экзогенного гонадотропина СЖК «Folligon®», наблюдается уменьшение концентрации холестерина, ХЛВЩ, ХЛНЩ и увеличение содержания триацилглицеролов и ХЛДНЩ. Нейротропно-метаболический препарат «Стимулин Вет», введенный донорам при стимуляции гонадотропином СЖК суперовуляции, интенсифицирует процессы уменьшения содержания холестерина, ХЛВЩ и ХЛНЩ, не изменяя концентрации ХЛДНЩ. У доноров через 48 ч (12-й день полового цикла) после введения гонадотропина СЖК между содержанием холестерина и холестерина липопротеидов высокой плотности отмечается положительная связь ($r = 0,827$).

Ключевые слова: корова-донор, суперовуляция, гонадотропин СЖК, холестерол, нейротропно-метаболический препарат

BLOOD LIPID PROFILE OF DONOR COWS WHEN STIMULATE SUPEROVULATION WITH PMSG COMBINED WITH NEUROTROPIC-METABOLIC PREPARATION

V.I. Sheremeta, O.P. Verheles

National University of Bioresources and Environmental Sciences of Ukraine

It was found that in the of blood of cow-donors during the growth of follicles in the ovaries induced by the injection of 3000 MO exogenous gonadotropins PMSG «Folligon®», there was a decrease in the concentration of cholesterol, HDL, LDL and increase of triacylglycerol and VLDL. Neurotropic-metabolic preparation «Stymulin Vet» which was injected to donors during stimulation of superovulation with gonadotropin PMSG, intensifies the processes of reduction of cholesterol, HDL and LDL level, and causes no change in the concentration of VLDL. In 48 hours after the injection of PMSG (12th day of sexual cycle) it was established high direct correlation ($r = 0,827$) between the content of cholesterol and cholesterol HDL of high density.

Key words: cow-donor, superovulation, PMSG «Folligon®», cholesterol, neurotropic-metabolic preparation

РОЗВЕДЕННЯ ТА СЕЛЕКЦІЯ

УДК 636.2.034 (477)

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА ПЕРВОГО ОТЁЛА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХОЗЯЙСТВЕННОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОРОВ УКРАИНСКОЙ ЧЁРНО-ПЁСТРОЙ МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ

Р.В. БРАТУШКА

*Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)
nalsurb@ukr.net*

Изучен характер влияния возраста первого отела на эффективность последующего хозяйственного использования коров украинской черно-пестрой молочной породы. Исследования проведены методом ретроспективного анализа материала первичного племенного учета Государственного предприятия «Опытное хозяйство Института сельского хозяйства Северного Востока Национальной академии аграрных наук Украины». Коровы опытного хозяйства за период хозяйственного использования отличались относительно длительным периодом жизни в стаде. В среднем они лактируют $1701 \pm 42,6$ дня, используются в стаде $1929 \pm 53,2$ дня, что соответствует $4,8 \pm 0,12$ лактации. Средняя продуктивность коров за период хозяйственного использования составляла $22238 \pm 655,2$ кг. Группе животных, отелившихся в возрасте 26 мес. и ранее, была характерна наиболее высокая пожизненная продуктивность ($32099 \pm 2141,6$ кг), продолжительность ($2873 \pm 175,5$ дня) и коэффициент хозяйственного использования ($0,77 \pm 0,012$). Вместе с тем отмечена тенденция к снижению уровня продуктивности первотелок с более ранними отелами.

Ключевые слова: корова, молочная продуктивность, возраст первого отела, эффективность хозяйственного использования

© Р.В. Братушка, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

Введение. В условиях жесткой конкуренции в агробизнесе и нестабильности закупочных цен на молоко фактор продолжительности продуктивного использования молочного скота приобретает все большую актуальность. Длительное использование и высокая пожизненная продуктивность, а следовательно, и высокая экономическая эффективность ведения отрасли безусловно необходимы для дальнейшего прогресса молочного скотоводства. Продолжительность хозяйственного использования свидетельствует о резистентности к болезням, о нормальном течении физиологических и биохимических процессов в организме животных, о приспособленности к конкретным технологиям производства продукции [1, 5, 7, 14].

Если средняя продолжительность использования коров будет меньше, чем 2,5 лактации, коровы-матери начнут выбывать из стада раньше, чем дадут приплод их дочери. В таком случае стадо прекращает свое существование как целостная биологическая система, что приводит к сокращению поголовья [4].

Сокращение продуктивного долголетия молочных коров – одна из острых проблем современного скотоводства во всем мире [14]. Средняя продолжительность хозяйственного использования коров голштинской породы Японии – 1250 дней [10], Канады – 1078 [12], Франции – 1030 [10], США – 750 дней [11].

Уровень удоя первотелок оказывает значительное влияние на продолжительность использования животных [3, 8, 13]. Считается, что животные с высокой продуктивностью (свыше 8 тыс. молока за лактацию) ранее выбывают из стада в силу повышенной физиологической нагрузки на организм.

Связь продолжительности продуктивного использования с возрастом первого отела предсказуема, так как формирование организма на ранних этапах онтогенеза влияет на последующую реализацию генетического потенциала животного, хотя характер и направленность этой связи вызывают определённые дискуссии [9]. В связи с этим возникает необходимость изучения влияния возраста первого отела коров на их последующее продуктивное долголетие.

Целью данного исследования является изучение характера влияния возраста первого отела на эффективность последующего хозяйственного использования коров украинской черно-пестрой молочной породы.

Материалы и методы исследований. Исследования проведены методом ретроспективного анализа материала первичного племенного учета Государственного предприятия «Опытное хозяйство Института сельского хозяйства Северного Востока Национальной академии аграрных наук Украины» по методике Ю.П. Полупана [6]. В выборку включено все поголовье коров украинской черно-пестрой молочной породы (сумской внутривидовый тип), которые впервые отелились на протяжении 1996–2005 гг. и выбыли из стада после окончания хотя бы одной лактации. Всего для анализа отобрано 439 коров. Эффективность пожизненного использования коров оценивали по следующим показателям: продолжительность жизни (разница (дней) между датами выбраковки и рождения); продолжительность хозяйственного использования (разница (дней) между датами выбраковки и первого отела); продолжитель-

ность лактирования (сумма дней всех лактаций); пожизненный удой (сумма удоев за все лактации), кг; среднее пожизненное содержание жира в молоке (средневзвешенный через показатель удоя), %; пожизненный выход молочного жира (сумма показателей за все лактации), кг; средний пожизненный удой (молочный жир) за один день лактации хозяйственного использования и жизни (как частное от деления пожизненного удоя на продолжительность соответствующего периода), кг; число лактаций коровы.

Коэффициент хозяйственного использования определяли по формуле:

$$= \frac{\text{---}}{\text{---}},$$

где J – продолжительность жизни коровы, дней; K – возраст коровы при первом отёле, дней.

В данном хозяйстве используется привязная технология содержания коров, доение осуществляется в молокопровод, обеспеченность кормами за проанализированный период была на уровне 50–55 ц к. ед. на голову в год.

Для создания электронных баз данных и статистического анализа результатов исследования использовали программы Microsoft Excel и Statistica 8.0.

Результаты исследования, обсуждение. Коровы опытного хозяйства за период исследования отличались относительно длительным периодом жизни в стаде. В среднем они лактируют $1701 \pm 42,6$ дня, используются в стаде $1929 \pm 53,2$ дня, что соответствует $4,8 \pm 0,12$ лактации, длительность всей жизни коров $2886 \pm 51,6$ дня. Средняя пожизненная продуктивность коров составляла $22238 \pm 655,2$ кг, что соответствует 4,5–5 тыс. кг за лактацию. За один день хозяйственного использования от подопытных коров получено $11,4 \pm 0,12$ кг молока, соответственно на один день жизни животного – $6,8 \pm 0,12$, лактирования – $13,6 \pm 0,11$. Коэффициент хозяйственного использования в среднем составлял $0,61 \pm 0,009$. За период продуктивного использования от подопытных животных было получено в среднем $878 \pm 24,4$ кг молочного жира, что соответствует 3,95% жирности молока.

В наших исследованиях большая часть животных впервые отелилась в 30-месячном возрасте, что свидетельствует о позднем сроке первого осеменения этих животных.

Данные таблицы свидетельствуют о значительном превышении показателей эффективности хозяйственного использования животных, отелившихся ранее 26-месячного возраста. Эта группа коров отличалась наиболее высокой, при достаточной статистической значимости разницы средних, пожизненной продуктивностью, а также продолжительностью и коэффициентом хозяйственного использования. Тем не менее продуктивность первой лактации была наименьшей. Значительная разница в 17745 кг молока ($p < 0,001$) пожизненного удоя между первой и последней градацией свидетельствует о преимуществе ранних отелов в контексте эффективности хозяйственного использования коров.

Зависимость эффективности хозяйственного использования от возраста первого отела

Признаки	Градации возраста первого отёла, мес.						
	<26	26–28	28–30	30–32	32–34	>34	
Количество учтенных голов	43	57	64	91	174	10	
Удой за 305 дней первой лактации, кг	3888±146,5	3948±176,1	4042±166,1	4084±154,7	3893±114,2	5265±741,4	
Пожизненный удой, кг	32099±2141,6	24193±1743,6	25355±1924,7	23077±1453,8	18029±872,6	14354±2628,0	
Количество лактаций	7,1±0,45	5,0±0,33	5,1±0,33	4,9±0,27	4,1±0,17	2,7±0,54	
Продолжительность жизни, дней	3611±177,4	2823±141,1	2992±146,1	2933±117,1	2681±71,7	2548±245,8	
Продолжительность хозяйственного использования, дней	2873±175,5	1996±141,4	2110±146,0	1994±117,4	1618±71,9	1148±234,4	
Дойных дней	2308±140,6	1751±109,4	1946±117,5	1687±94,8	1475±727,3	976±216,1	
Пожизненный молочный жир, кг	1203±82,5	946±64,7	1034±72,02	878±53,3	727±31,9	542±88,6	
Удой на 1 день жизни, кг	8,5±0,24	7,6±0,33	7,4±0,33	7,0±0,25	5,9±0,18	5,3±0,56	
Удой на 1 день хозяйственного использования, кг	11,0±0,22	11,6±0,25	11,4±0,27	11,5±0,29	11,1±0,23	13,7±1,49	
Удой на 1 день лактирования	13,7±0,26	14,1±0,31	13,9±0,27	13,9±0,24	13,1±0,18	17,6±1,66	
Молочный жир на 1 день лактирования, г	319±10,2	296±11,1	295±11,1	267±8,7	233±6,1	195±18,5	
Молочный жир на 1 день хозяйственного использования, г	439±9,9	435±10,5	420±10,4	415±9,1	397±5,9	444±23,9	
Молочный жир на 1 дойный день, г	512±11,2	527±12,6	513±11,2	511±8,7	480±6,51	629±61,3	
Коэффициент хозяйственного использования	0,77±0,012	0,65±0,021	0,64±0,022	0,62±0,024	0,54±0,015	0,41±0,054	

Относительные показатели животных первой градации, такие как удой и молочный жир за один день жизни, лактирования, использования, находятся на уровне, а в некоторых случаях даже ниже, чем аналогичные признаки животных с более поздними отелами, что свидетельствует об умеренной интенсивности использования и меньшей физиологической напряженности лактирования коров ранних первых отелов.

Такая закономерность, на наш взгляд, объясняется тем, что первый отел в относительно раннем возрасте стимулирует дальнейшую воспроизводительную функцию, при этом молочная продуктивность первой лактации несколько ниже, что также до определенной степени положительно влияет на эффективность и продолжительность хозяйственного использования молочных коров.

Если момент плодотворного осеменения телок по каким-то причинам откладывается, что само по себе является определенным индикатором проблемы, скорее всего у таких животных в дальнейшем наблюдаются различные патологии репродуктивных органов, они часто выбраковываются из стада сразу после первой лактации. Но при этом такие первотелки за счет общего лучшего развития на начало лактации способны дать высший удой. Это в совокупности и формирует последующую продолжительность использования коровы.

Данные, полученные анализом соотносительной изменчивости групповых средних, подтверждаются корреляционным анализом, в большинстве случаев найдена обратная связь. Коэффициент фенотипической корреляции между возрастом первого отела и продолжительностью хозяйственного использования находится на уровне $-0,29 \pm 0,04$ ($p < 0,001$), пожизненным удоём $-0,23 \pm 0,04$ ($p < 0,001$), числом лактаций $-0,24 \pm 0,04$ ($p < 0,001$), продолжительностью жизни $-13 \pm 0,05$ ($p < 0,001$), количеством дойных дней $-0,23 \pm 0,04$ ($p < 0,001$). Корреляционная связь с удоём на один день жизни, хозяйственного использования и лактирования составляла от $-0,42$ до $0,05$ и была статистически незначима. В пользу содержания жира в молоке коров более поздних отелов свидетельствует положительный коэффициент фенотипической корреляции. Для относительных показателей молочного жира на один день хозяйственного использования и лактирования он находился в пределах $0,22 - 0,23$ ($p < 0,001$).

Выводы. Коровы Государственного предприятия «Опытное хозяйство Института сельского хозяйства Северного Востока Национальной академии аграрных наук Украины» характеризуются повышенной продолжительностью хозяйственного использования.

Положительное влияние раннего и оптимальных сроков первого отела на продолжительность и эффективность хозяйственного использования коров подтверждается анализом соотносительной изменчивости групповых средних и корреляционным анализом. Для дальнейшего эффективного хозяйственного использования коров необходимо планировать плодотворное осеменение ремонтных тёлочек в возрасте не позже 17 мес.

Благодарность. Институту сельского хозяйства Северного Востока Национальной академии аграрных наук Украины в лице заведующего лабораторией животноводства и кормопроизводства кандидата сельскохозяйственных наук Скляренко

Юрия Ивановича, а также главному зоотехнику Государственного предприятия «Опытное хозяйство Института сельского хозяйства Северного Востока Национальной академии аграрных наук Украины» Лисянской Людмиле Николаевне за сотрудничество и предоставление материалов племенного учета.

1. *Крупномасштабная селекция в животноводстве / Н.З. Басовский [и др.].* — К.: Ассоциация «Украина», 1994. — 374 с.

2. *Вахонева А.* Использование в стаде коров-рекордисток и их долголетие / А. Вахонева, Д. Абылкасымов, Н. Сударев // Молочное и мясное скотоводство. — 2010. — № 8. — С. 9–11.

3. *Крючкова Н.Н.* Продолжительность хозяйственного использования коров чёрно-пёстрой породы разного уровня молочной продуктивности / Н.Н. Крючкова, И.М. Стародумов // Зоотехния. — 2008. — № 2. — С. 16.

4. *Петренко І.П.* Генетико-популяційні процеси при розведенні тварин / І.П. Петренко [та ін.] ; за ред. І.П. Петренка. — К. : Аграрна наука, 1997. — 476 с.

5. *Полупан Ю.П.* Ефективність довічного використання червоної молочної худоби / Полупан Ю.П. // Розведення і генетика тварин. — К. : Аграрна наука, 2000. — Вип. 33. — С. 97–105.

6. *Полупан Ю.П.* Методика оцінки селекційної ефективності довічного використання корів молочних порід / Полупан Ю.П. // Методологія наукових досліджень з питань селекції, генетики та біотехнології у тваринництві: мат. наук.-теор. конф., присвяч. пам'яті академіка УААН Валерія Петровича Бурката (Чубинське, 25 лютого 2010 року). — К.: Аграрна наука, 2010. — С. 93–95.

7. *Суровцев В.Н.* Влияние срока продуктивного использования на конкурентоспособность молочного животноводства / В.Н. Суровцев, Б.С. Галсанова // Зоотехния. — 2008. — № 5. — С. 21–22.

8. *Шкурко Т.П.* Молочна продуктивність голштинських корів залежно від тривалості продуктивного використання / Шкурко Т.П. // Тваринництво XXI ст.: новітні технології, досягнення та перспективи : мат. міжнар. наук.-практ. конф. (Харків, 3–6 жовтня 2006 року). — Х. : ІТ УААН. — С. 449–453.

9. *Шкурко Т.П.* Зв'язок тривалості продуктивного використання молочних корів з енергією росту в онтогенезі // Наукові доповіді НАУ. — 2007. — № 2 (7). — С. 1–11.

10. *Terawaki Y.* Development of a survival model with piecewise weibull baselines for the analysis of length of productive life of holstein cows in japan / Y. Terawaki, T. Katsumi, V. Ducrocq // J. Dairy Sci. — 2006. — Vol. 89. — P. 4058–4065.

11. *Evaluating sire selection practices using lifetime net income functions/* V.G. Cassell [et al.] // J. Dairy Sci. — 2002. — Vol. 85. — P. 3492–3502.

12. *Dürr J.W.* Genetic analysis of herd life in quebec holsteins using weibull models / J.W. Dürr, H.G. Monardes, R.I. Cue // J. Dairy Sci. — 1999. — Vol. 82. — P. 2503–2513.

13. *Genetic and phenotypic relationships among locomotion type traits, profit, production, longevity, and fertility in spanish dairy cows//* M.A. Pe' rez-Cabal [et al.] // J. Dairy Sci. — 2006. — Vol. 89. — P. 1776–1783.

14. *Heinrichs A.J.* Prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd / A.J. Heinrichs, B.S. Heinrichs // J. Dairy Sci. — 2011. — Vol. 94 — P. 336–341.

ВПЛИВ ВІКУ ПЕРШОГО ОТЕЛЕННЯ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ГОСПОДАРСЬКОГО ВИКОРИСТАННЯ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ

Р.В. Братушка

Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)

Вивчено характер впливу віку першого отелення на ефективність господарського використання корів української чорно-рябої молочної породи. Дослідження проведені методом ретроспективного аналізу за матеріалами первинного племінного обліку племінного заводу «Дослідного господарства Інституту сільського господарства Північного Сходу Національної академії аграрних наук України». Корови дослідного господарства за врахований період характеризуються відносно тривалим періодом господарського використання. У середньому вони лактували $1701,5 \pm 42,6$ дня, використовувалися в стаді $1929,8 \pm 53,2$ дня, що відповідає $4,84 \pm 0,12$ лактації. Середня довічна продуктивність корів становила $22238,7 \pm 655,2$ кг. Група тварин, що отелювалась у віці 26 міс. і раніше, характеризувалася найбільш високою довічною продуктивністю ($32099 \pm 2141,6$ кг), тривалістю ($2873 \pm 175,5$ дня) і коефіцієнтом господарського використання ($0,77 \pm 0,012$). Водночас виявлено тенденцію до зниження рівня продуктивності первісток з більш раннім віком першого отелення.

Ключові слова: корова, молочна продуктивність, вік першого отелення, ефективність господарського використання

EFFECT OF AGE AT FIRST CALVING ON ECONOMIC USE EFFICIENCY OF UKRAINIAN BLACK-AND-WHITE DAIRY COWS

R.V. Bratushka

Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS (Chubinskoe, Ukraine)

The aim of this study was to investigate effect of first calving age on some economic use efficiency traits of Ukrainian Black-and-White dairy cows. Research are carried out, using a retrospective analysis of primary breeding data of the breeding farm «Experimental farm of the Institute of Agriculture of the North-East» National Academy of Agrarian Sciences, Ukraine. Experimental farm cows for the investigated period were characterized by a rather long period of herd-life. In average they lactated $1701,5 \pm 42,6$ days, were used in the herd $1929,8 \pm 53,2$ days, which corresponds to $4,84 \pm 0,12$ lactation. Average lifetime yield was $22238,7 \pm 655,2$ kg. Group of animals, which calved at 26 months, had the highest lifetime productivity ($32099 \pm 2141,6$ kg), herd life ($2873 \pm 175,5$ days), and the coefficient of economic use efficiency ($0,77 \pm 0,012$). But there were found tendency to reducing of first lactation cow's production with earlier calving.

Key words: cow, milk yield, first calving age, economic use efficiency

ЯКІСНІ ПОКАЗНИКИ М'ЯЗОВОЇ І ЖИРОВОЇ ТКАНИН ВІДГОДІВЕЛЬНОГО МОЛОДНЯКУ ПОРІД ЛАНДРАС, ВЕЛИКА БІЛА, ДЮРОК, ГЕМПШИР, П'ЄТРЕН

А.П. ВАСИЛІВ

*Тернопільська державна сільськогосподарська дослідна станція
Інституту кормів і сільського господарства Поділля НААН (Тернопіль, Україна)*

Представлено результати дослідження фізико-хімічних властивостей м'язової та жирової тканин відгодівельного молодняку порід ландрас, велика біла, дюрок, гемпшир та п'єтрен при досягненні ними живої маси 100 кг. Установлено, що фізико-хімічні властивості м'язової та жирової тканин підсвинків дослідних порід мають високий рівень якості. У порід з більшою швидкістю та м'ясністю – гемпшир, п'єтрен, а також дюрок, – показники вологоутримувальної здатності та інтенсивності забарвлення м'яса дослідних зразків нижчі порівняно з показниками порід ландрас і велика біла.

Ключові слова: волоутримувальна здатність, інтенсивність забарвлення, суха речовина, кислотність, жир, протеїн, зола

Введення. Подальша інтенсифікація галузі свинарства та вступ України до Всесвітньої організації торгівлі вимагає підвищення конкурентоспроможності вітчизняних порід свиней. В першу чергу, ці вимоги стосуються рівня м'ясної продуктивності тварин, які визначають у подальшому комерційну вартість туші. Якщо раніше закупівельні ціни практично не залежали від товщини шпику або виходу пісного м'яса, то наразі м'ясопереробна промисловість готова платити більш високу ціну за туші свиней м'ясного типу як в Україні, так і в Європі [2, 9, 10].

Нині ряд господарств розв'язують цю проблему шляхом завезення свиней імпортного поголів'я із-за кордону не тільки з селекційною метою, а навіть суто для відгодівлі. Завезення імпортного поголів'я та селекційна робота, яка спрямована здебільшого на покращання м'ясних та відгодівельних якостей поряд з поліпшенням господарськи корисних ознак у свиней, часто порушують нейроендокринні механізми захисту організму, що знижує адаптаційні можливості та загальну резистентність цих тварин і підвищує чутливість до стресу [1, 3, 7].

У господарствах США та країн Західної Європи, які розводять і відгодовують свиней м'ясних порід, поширена схильність свиней до стресового синдрому

© А.П. Василів, 2013

му, що призводить до значних економічних збитків унаслідок втрати якісних показників м'яса [4, 11, 12]. Тому проблема адаптації свиней в останні роки отримала важливе селекційне й економічне значення. Мета дослідження – провести порівняльну оцінку фізико-хімічних властивостей м'язової та жирової тканин відгодівельного молодняка порід: ландрас, велика біла, дюрок, гемпшир, п'єтрен зарубіжного походження.

Матеріали і методи досліджень. Науково-господарські досліді за темою досліджень проводили в умовах промислового комплексу «Агропродсервіс» Тернопільської області.

Для вивчення якісних показників м'язової та жирової тканин відбирали по 5 дослідних проб від забійних туш кожної із порід – ландрас, велика біла, дюрок, гемпшир, п'єтрен – після 48-годинного витримування в холодильній камері при температурі від +2 до +4°. Для дослідження відбирали проби найдовшого м'яза спини і спинного сала на ділянці між 9–12-м грудними хребцями в кількості – 400 г м'яса і 200 г сала з кожної півтуші. Контрольний забій дослідних підсвинків здійснювали при досягненні ними живої маси 100 кг.

Вивчення фізико-хімічного складу м'яса і сала проводили за загальноприйнятими методиками [5, 6, 8].

У пробах м'яса визначали: кількість загальної вологи (шляхом додавання показників початкової і гігроскопічної вологи, початкову вологу визначали висушуванням наважки м'яса в сушильній шафі до постійної маси при температурі 60–65°C; гігроскопічну вологу – висушуванням наважки повітряно-сухої речовини до постійної маси при температурі 100–105°C); суху речовину, вміст жиру (методом Сокслета); вміст протеїну (методом К'ельдаля); вміст «сирої» золи (спалюванням наважки повітряно-сухої речовини в муфельній печі при температурі 500–600°C); вологоутримувальну властивість м'яса («прес-методом» Грау-Гамма); рН м'язової тканини (потенціометрично); інтенсивність забарвлення м'яса (екстракційним методом у модифікації Хорнсі).

У жировій тканині визначали вміст вологи, вміст жиру сухої речовини, а також йодне число (за Гюблю); температуру плавлення (за допомогою відкритого з двох боків скляного капіляра). Статистичний аналіз одержаних результатів проведено загальноприйнятими методами.

Результати досліджень та їхнє обговорення. Результати аналізу фізико-хімічних властивостей м'язової та жирової тканин підсвинків дослідних порід свідчать про високий рівень їхньої якості та детермінацію породним факторам.

Серед дослідних порід найбільшу вологоутримувальну здатність зафіксовано у дослідних зразках м'яса породи ландрас – 53,5%. Їхня перевага за цим показником над породами велика біла, дюрок, гемпшир, п'єтрен становила відповідно +0,40 ($P \leq 0,05$); + 0,80 ($P \leq 0,05$); + 0,90 ($P \leq 0,05$); + 1,30% ($P \leq 0,05$). За вмістом загальної вологи перевага у дослідних зразках породи п'єтрен – 74,1% (табл. 1).

1. Оцінювання фізико-хімічних властивостей м'язової тканини (n=5)

Показник	Порода*				
	Л	ВБ	Д	Г	П
Вологоутримувальна здатність, %	53,5±0,65	53,1±0,85**	52,7±0,82**	52,6±0,54**	52,2±0,62**
Кислотність, рН (24)	5,8 ±0,06	5,8±0,08	5,7±0,05**	5,7±0,10**	5,6±0,06**
Інтенсивність забарвлення, (од.екст. 1000)	73,6±1,66	76,8±0,93	72,4±1,14	71,8 ±0,94	70,2 ±0,73
Загальна волога, %	73,6±1,56	73,2±0,91	73,4±0,43	73,9±0,53	74,1±1,2
Суша речовина, %	26,3±1,56	26,8±0,91	26,6±0,43	26,1±0,53	25,8±1,2
Жир, %	2,5±0,13	2,7±0,17	2,6±0,06	2,4±0,12	2,4±0,10
Протеїн, %	22,2±0,58	21,8±0,50	21,1±0,50	22,3±0,81	22,4±0,70
Зола, %	1,4±0,09	1,6±0,10	1,5±0,08	1,4±1,42	1,4±0,09

* Породи: Л – ландрас; ВБ – велика біла; Д – дюрорк; Г – гемпшир; П – п'єтрен;
 ** P < 0,05.

Серед дослідних зразків м'яса показник активної кислотності у всіх порід знаходився в межах 5,6–5,8 од. Найвищим він був у м'ясі підсвинків ландрас та велика біла – 5,8 од. Хоча їхня перевага за цим показником над породами дюрорк, гемпшир, п'єтрен була невірогідною – + 0,10; + 0,10; + 0,20 од.

За показником інтенсивності забарвлення серед зразків досліджуваного м'яса перевагу мали зразки порід велика біла та ландрас – відповідно 76,8±0,93; 73,6±1,66 од. екст.

У порід з більшою скороспілістю та м'ясністю – гемпшир, п'єтрен, а також дюрорк – показники інтенсивності забарвлення м'яса нижчі і становлять 72,4±1,14; 71,8±0,94; 70,2±0,73 од. екст.

Щодо вмісту білка у м'ясі, то він вищий у порід п'єтрен та гемпшир – 22,4±0,70 і 22,3±0,81% відповідно, тоді як вміст жиру у свиней породи велика біла – 2,7±0,17%.

За результатами оцінки фізико-хімічних властивостей жирової тканини можна зробити висновок, що більш біологічно цінним шпик був у свиней породи велика біла, про що свідчать найнижчі показники температури плавлення шпику в цих порід – 38,5°C та найбільші величини йодного числа – 61,6 од. (табл. 2).

У свиней цієї породи і найвищий відсоток вмісту сухої речовини – 93,0%. В інших дослідних порід вміст сухої речовини коливався в межах 91,6–92,6%.

Найбільший вміст загальної вологи виявлено у салі свиней порід п'єтрен, гемпшир і дюрорк – 8,4; 8,2 і 7,7% відповідно.

2. Фізико-хімічні властивості жирової тканини

Порода*	Кількість, гол.	Загальна волога, %	Суша речовина, %	Йодне число, од.	Температура плавлення, °С
Л	5	7,3±0,05	92,6±0,05	59,6±0,19***	38,8±0,46**
ВБ	5	7,0±0,08	93,0±0,08	61,6±0,34	38,5±0,58
Д	5	7,7±0,06	92,3±0,06	58,9±0,24***	38,8±0,37**
Г	5	8,2±0,13	91,8±0,13	56,7±0,15***	39,0±0,32**
П	5	8,4±0,11	91,6±0,11	55,6±0,13***	39,2±0,37**

* Породи: Л – ландрас; ВБ – велика біла; Д – дюркок; Г – гемпшир; П – п'єтрен;
** $P < 0,05$ відносно найнижчого показника; *** $P < 0,001$ відносно найвищого показника.

Висновки. Фізико-хімічні властивості м'язової та жирової тканин підсвинків дослідних порід свідчать про високий рівень їхньої якості та впливу породного фактора.

За показником інтенсивності забарвлення зразків досліджуваного м'яса перевагу мали такі породи, як велика біла і ландрас – відповідно $76,8 \pm 0,93$ і $73,6 \pm 1,66$ од. екст.

У порід з більшою скороспілістю та м'ясністю – гемпшир, п'єтрен, а також дюркок – показники інтенсивності забарвлення м'яса нижчі і становлять $72,4 \pm 1,14$; $71,8 \pm 0,94$; $70,2 \pm 0,73$ од. екст. відповідно.

Біологічно ціннішим шпик був у свиней породи велика біла, що видно з найнижчого показника температури плавлення шпику в цих порід – $38,5^\circ\text{C}$ та найбільшої величини йодного числа – 61,6 од.

1. *Акимов С.В.* Приспособленность свиней разных пород к современным технологиям / С.В. Акимов, Ю.Г. Бургу // Зоотехния. – 2002. – № 4. – С. 22–24.

2. *Карагина Г.* Свиноводство прибыльный бизнес без дотаций / Карагина Г. // Эффективное тваринництво. – 2008. – № 6 (30). – С. 8–13.

3. *Клименко А.И.* Показатели естественной резистентности организма свиней специализированных мясных типов / А.И. Клименко, Е.В. Жила // Зоотехния. – 2008. – № 7. – С. 23–24.

4. *Липа О.Н.* Стресс-синдромы у свиней: PSS и MHS / Липа О.Н. // Тваринництво сьогодні. – 2011. – № 2. – С. 52–55.

5. *Методические рекомендации по оценке мясной продуктивности, качеству мяса и подкожного жира свиней* / В.А. Коваленко [и др.]. – М.: ВАСХ-НИЛ. – 1987. – 17 с.

6. *Методи оцінки вгодованості м'ясної худоби та визначення якості м'яса* / М.Г. Повозніков [та ін.]. – Кам'янець-Поділ.: Абетка, 2003. – 20 с.

7. *Никитченко И.Н.* Адаптация, стрессы и продуктивность сельскохозяйственных животных / И.Н. Никитченко, С.И. Плященко, А.С. Зеньков. – Мн.: Урожай, 1988. – 200 с.

8. *Поливода А.М.* Методика оценки качества продуктов убоя у свиней / А.М. Поливода, Р.В. Стробыкина, М.Д. Любецкий // Методики исследований по свиноводству. – Х., 1977. – 151 с.

9. *Соколов Н.* Перспективы использования генетического потенциала свиней отечественного и импортного происхождения / Соколов Н. // Свиноводство. – 2007. – № 3. – С. 5–7.

10. *Чертков Д.Д.* Аспекти стабільного розвитку тваринництва в умовах ринкових відносин / Д.Д. Чертков, В.І. Богачев, Б.Д. Чертков // Ефективне тваринництво. – 2009. – № 4 (36). – С. 9–12.

11. *Устинов Д.А.* Стресс-факторы в промышленном животноводстве / Устинов Д.А. – М. : Россельхозиздат, 1976. – 166 с.

12. *Gibson R.O.* The Effects of PSS Genotype on Growth and Carcass Characteristics / R.O. Gibson, J.P. Ball, В.Е. Uttario // Proceedings of the Ontario Pork Carcass Appraisal Project Symposium. – 1996. – P. 35–38.

КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЫШЕЧНОЙ И ЖИРОВОЙ ТКАНЕЙ ОТКОРМОЧНОГО МОЛОДНЯКА ПОРОД ЛАНДРАС, КРУПНАЯ БЕЛАЯ, ДЮРОК, ГЕМПШИР, ПЬЕТРЕН

А.П. Васылив

*Тернопольская государственная сельскохозяйственная опытная станция
Института кормов и сельского хозяйства Подолья НААН (Тернополь, Украина)*

Представлены результаты сравнительного изучения физико-химических свойств мышечной и жировой тканей откормочного молодняка пород ландрас, крупная белая, дюрок, гемпшир и пьетрен при достижении ими живой массы 100 кг. Установлено, что физико-химические свойства мышечной и жировой тканей подсвинок исследуемых пород имеют достаточный уровень качества. У пород, имеющих высокую скороспелость и мясность – гемпшир, пьетрен, а также дюрок, – показатели влагоудерживающей способности и интенсивности цвета мяса опытных образцов ниже по сравнению с показателями у пород ландрас и крупная белая.

Ключевые слова: влагоудерживающая способность, интенсивность окраски, сухое вещество, кислотность, жир, протеин, зола

THE QUALITATIVE PECULIARITIES OF MUSCULAR AND FAT TISSUE OF FATTENED YOUNG PIGS OF THE LANDRACE, LARGE WHITE, DUROC, HEMPSHIR, PIETRAIN BREEDS

A.P. Vasyliv

Ternopil State Agricultural Experimental Station of Institute of Feed and Agriculture of Podillya (Ternopol, Ukraine)

The results of comparative study of physical-and-chemical peculiarities of muscular and fat tissue of fattened young pigs of Landrace, Large White, Duroc, Hampshire and Pietrain breeds, when achieved 100 kg live weight are given in the article. It has been determined that physical-and-chemical properties of muscular and fat tissues of young pigs of investigated

breeds have the sufficient quality. Breeds, that are earlier maturing and more fleshed such as Duroc and especially Hampshire, Pietrain have indexes of moisture keeping ability and intensity of meat colour in investigated samples lower comparatively to indexes of Landrace and Large White breeds.

Key words: moisture keeping ability, intensity of colour, dry matter, acidity, lipid, protein, ash

УДК 636.612.082

М'ЯСНА ПРОДУКТИВНІСТЬ ТА ЗАБІЙНІ ПОКАЗНИКИ БУГАЙЦІВ ВОЛИНСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ РІЗНИХ КОНСТИТУЦІОНАЛЬНИХ ТИПІВ

В.Д. ФЕДАК, Н.М. ФЕДАК

*Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН
(Оброшине, Україна) natali_fedak@i.ua*

Наведено результати досліджень м'ясної продуктивності та забійних показників бугайців волинської м'ясної породи різних конституціональних типів. Відзначено, що тварини високоферментного типу за забійними показниками (15,9%), м'ясною продуктивністю (9,9%) й окремими індексами травних, внутрішніх органів та деяких частин тіла переважали аналогів низькоферментного типу.

Ключові слова: конституціональний тип, індекс оцінювання, м'ясна порода, забійні показники

Введення. Вирощування худоби м'ясних порід треба організувати так, щоб за раціональних затрат праці і витрат кормів забезпечити оптимальний ріст молодняку й закласти основу для майбутньої високої продуктивності дорослих тварин. Сучасні ринкові відносини в Україні потребують відповідної конкурентоспроможності від товаровиробників. У скотарстві надійним гарантом підвищення продуктивності є формування відповідного генетичного потенціалу об'єктів розведення, які користуються попитом на продовольчому ринку. Основним критерієм вирощування худоби м'ясних порід є якість м'яса.

© В.Д. Федак, Н.М. Федак, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

Волинську м'ясну породу виведено у 1993 р. на Поліссі. Вона добре пристосована до умов західних областей України (Волинської, Рівненської, Львівської тощо) [11]. Вивчення конституціональних особливостей тварин означеної породи в умовах Карпатського регіону не проводили, тому нашою метою був аналіз конституціональних характеристик та формування забійних показників і м'ясної продуктивності у бугайців волинської м'ясної породи в умовах Карпатського регіону за розробленою нами методикою [1].

Матеріал і методика досліджень. Експериментальну частину роботи виконано у 2008–2010 рр. у ПП «Добросин» Жовківського району Львівської області на бугайцях волинської м'ясної породи, попередньо оцінених за конституціональним типом згідно з розробленим нами фізіолого-селекційним індексом [1]. На основі показників оцінювання тварин було розділено на групи: до контрольної їх віднесено з низьким показником індексу (низькоферментний тип, $n=3$), до дослідної – з високим (високоферментний тип, $n=3$) (табл. 1). Годівля тварин обох груп була помірною. Групи формували у 8–9-місячному віці після відлучення тварин. У постнатальному онтогенезі вивчали ваговий, лінійний розвиток та інтер'єрні показники. У 18-місячному віці у приватному цеху (м. Жовква) провели контрольний забій (по три тварини з кожної групи). Забійні показники та м'ясну продуктивність бугайців вивчали за методикою ВІТу (1980 р.).

1. Фізіолого-селекційний індекс оцінювання конституціонального типу бугайців, %

Вік, міс.	Групи тварин		
	контрольна	дослідна	±дослід до контролю
9	77,24	86,68	+9,44
12	66,75	71,12	+4,37
15	92,77	101,62	+8,85
18	103,05	113,17	+ 10,12

Статистичний аналіз одержаних даних проведено загальноприйнятими методами.

Результати досліджень, їхнє обговорення. Жива маса є одним із основних показників, який характеризує м'ясну продуктивність тварин. За живою масою в постнатальному онтогенезі є можливість спостерігати, як відбувається накопичення маси тіла у тварини. Ми встановили, що між забійними показниками бугайців волинської м'ясної породи різного конституціонального типу є відмінності (табл. 2), а саме: передзабійна маса, маса парної й охолодженої туш, забійна маса були вірогідно вищими у дослідних аналогів відповідно на 11,3; 15,5; 15,9; 4,0% за практично однакової маси внутрішнього жиру.

2. Забійні показники бугайців ($M \pm m$)

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Жива маса при знятті з досліду, кг	430±4,41	480±3,41 *
Передзабійна жива маса, кг	370±3,25	420±3,03 *
Маса парної туші, кг	206±5,18	238±3,27*
Маса охолодженої туші, кг	201±5,78	233±2,33*
Маса внутрішнього жиру, кг	15,6±0,94	15,5±0,53
Забійна маса, кг	222±3,37	253±2,00*
Забійний вихід, %	60,00	60,24

Примітка. P – рівень значущості; * $P > 0,95$.

Аналіз сортового складу м'яса показав (табл. 3), що за масою відрубів I, II і III сорту бугайці дослідної групи переважали контрольних відповідно на 17,7; 9,9 і 33,2% ($P > 0,90-0,95$).

3. Сортовий склад півтуші ($M \pm m$)

Показники	Групи тварин	
	контрольна	дослідна
Маса півтуші: кг	100,16±2,89	116,18±1,17**
%	100,00	100,00
I сорт: кг	60,61±2,06	71,36±3,69*
%	60,51	61,42
II сорт: кг	33,70±0,83	37,03±1,74 *
%	33,65	31,87
III сорт: кг	5,85±0,29	7,79±0,68 *
%	5,84	6,71

Примітка. P – рівень значущості; * $P > 0,90$; ** $P > 0,95$.

Частка найцінніших у харчовому плані відрубів I сорту була вищою також у тварин високоферментного конституційного типу.

Фізіолого-біохімічні показники м'язової тканини великої рогатої худоби (кількість сухої речовини, жиру, протеїну, золи) доповнюють характеристику харчової цінності і є важливою складовою відгодівельних якостей тварин (табл. 4).

4. Хімічний склад м'яса, %

Група	Вода	Суша речовина	Сирий протеїн	Сирий жир	Сира зола	Калорійність 1 кг, КДж
Середня проба м'яса						
Контрольна	76,70	23,30	18,20	4,30	0,80	4807
Дослідна	74,55	25,45	19,65	4,90	0,90	5291
Найдовший м'яз спини						
Контрольна	78,26	21,74	19,53	1,30	0,91	3866
Дослідна	76,14	23,86	21,44	1,50	0,92	4273

Вміст сирого протеїну в середній пробі м'яса й найдовшому м'язі спини був вищим у бугайців дослідної групи на 7,97 і 9,78%. Аналогічну закономірність відзначено щодо вмісту інших якісних показників. М'ясо бугайців дослідної і контрольної груп відповідає вимогам пісної яловичини. До пісної відносять яловичину, в якій є 18–20% білка і 8–10% жиру [7].

Відомо, що породні, конституціональні особливості організму формуються за впливу генотипних і паратипових факторів. Ми вивчали формування комплекції у бугайців різного конституційного типу за помірного рівня годівлі. Під комплекцією слід розуміти розвиток м'язової, жирової і кісткової тканин, органів травлення, а також окремих частин тіла і розрахунок між ними індексів [5].

Показники морфологічного складу м'яса, зокрема маса м'язової тканини, були вірогідно вищими у дослідних ровесників на 19,5% (табл. 5).

Слід додати, що за масою жирової і кісткової тканин, площею м'язового вічка та діаметром м'язового волокна тварини дослідної групи мали неістотну перевагу над групою контрольних ровесників.

5. Морфологічний склад півтуші бугайців ($M \pm m$)

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Маса півтуші, кг	100,05±2,89	116,40±1,67**
М'язова тканина: кг	75,50±0,02	90,20±0,69**
%	75,39	77,49
Жирова тканина: кг	2,45±0,32	2,50±0,34
%	2,45	2,15
Кісткова тканина: кг	22,20±0,90	23,70±1,76 *
%	22,16	20,36
Площа м'язового вічка: см ²	77,30±5,26	88,80±7,38
Діаметр м'язового волокна: мк	45,22±1,54	52,77±5,00

Примітка. *P>0,90; **P>0,95.

Поряд з розвитком м'язової тканини важливе значення мають такі показники комплекції, як розвиток травних (табл. 6) і внутрішніх (табл. 7) органів.

Виявлено, що маса шлунка й тонкого відділу кишківнику, а також його довжина були вірогідно вищими у бугайців дослідної групи – відповідно на 16,7; 6,7 і 4,0% (табл. 6). Різниця за масою та довжиною товстого відділу кишківнику була неістотною.

6. Абсолютна маса та індекси травних органів ($M \pm m$)

Показники	Групи			
	контрольна		дослідна	
	кг	%	кг	%
Шлунок	19,70±0,85	8,87	23,00±0,58**	9,09
Маса тонкого відділу кишківнику	4,00±0,058	1,80	4,27±0,033 **	1,69
Маса товстого відділу кишківнику	1,64±0,02	0,74	1,65±0,015	0,65
Забійна маса	222	–	253	–
Довжина тонкого відділу кишківнику, м	37,00±0,14	26,85	38,40±0,21 **	27,63
Довжина товстого відділу кишківнику, м	7,07±0,088	5,23	7,27±0,14	5,23
Навскісна довжина тулуба, м	1,35	–	1,39	–

Примітка. *P>0,90; **P>0,95.

Ми проводили розрахунки індексів травних органів. Під індексом слід розуміти відношення певного органу до забійної маси тварини, вираженої у відсотках [5].

За індексами шлунка та довжини тонкого відділу кишківнику бугайці дослідної групи переважали контрольних на 2,5 і 2,9%, індекс товстого відділу був однаковим, а індекс маси товстого й тонкого відділів кишківнику теж був дещо вищим, ніж на контролі.

За масою легенів, селезінки, серця, печінки, нирок з наднирниками бугайці дослідної групи переважали контрольних аналогів відповідно на 37,2; 58,3; 3,4; 8,6 і 2,1% (табл. 7). За індексом легень тварини дослідної групи мали дещо вищі показники, ніж контрольні аналоги. Індекси серця, печінки, селезінки, нирок істотної різниці між групами не мали.

Складовою комплекції також є окремі частини тіла – голова, кінцівки, шкіра тощо (табл. 8). Виявлено, що бугайці дослідної групи за масою шкіри, грудних, тазових кінцівок і голови переважали контрольних аналогів відповідно на 17,6; 17,1; 5,7 і 7,7%. Індекси шкіри та грудних кінцівок були вищими в дослідній групі, а голови і тазових кінцівок – у контрольних аналогів.

7. Абсолютна маса та індекси внутрішніх органів ($M \pm m$)

Показники	Групи			
	контрольна		дослідна	
	кг	%	кг	%
Серце	1,78±0,120	0,80	1,84±0,043	0,73
Легені з трахеєю	3,57±0,180	1,61	4,90±0,460 *	1,94
Печінка	4,78±0,044	2,15	5,19±0,400	2,05
Селезінка	0,68±0,003	0,30	0,76±0,085 **	0,30
Нирки з наднирниками	0,97±0,024	0,44	0,99±0,006	0,39
Забійна маса	222	—	253	—

Примітка. *P>0,90; **P>0,95.

8. Абсолютна маса та індекси окремих частин тіла ($M \pm m$)

Показники	Групи			
	контрольна		дослідна	
	кг	%	кг	%
Голова без язика	13,12±0,27	5,91	14,14±0,620	5,59
Грудні кінцівки	3,97±0,42	1,79	4,65±0,029 *	1,84
Тазові кінцівки	4,74±0,34	2,13	5,01±0,084 *	1,98
Шкіра	32,30±1,45	14,15	38,00±2,000**	15,02

Примітка. *P>0,90; **P>0,95.

Важливу функцію в гуморальній регуляції відіграють залози внутрішньої секреції, розвиток маси деяких з них має важливе значення для наукових досліджень (табл. 9).

9. Абсолютна маса та індекси залоз внутрішньої секреції бугайців ($M \pm m$)

Показники	Групи			
	контрольна		дослідна	
	г	%	г	%
Щитоподібна залоза	34,10 ±0,560	0,015	33,83±1,17	0,013
Підшлункова залоза	367,00 ±12,91	0,009	430,00±11,55*	0,17
Наднирники	13,23±0,033	0,0058	13,37±0,0076	0,0053
Забійна маса, кг	222		253	

Примітка. *P>0,90.

За масою підшлункової залози й наднирників тварини дослідної групи дещо переважали контрольних бугайців. Це свідчить про те, що внутрішня секреція,

яка пов'язана із синтетичними процесами в організмі, функціонально інтенсивніша у тварин дослідної групи.

За індексом підшлункової залози тварини дослідної групи мали перевагу над контрольними аналогами.

Висновки. Бугайці волинської м'ясної породи високоферментного типу при помірному рівні вирощування (дослідна група) за забійними показниками, м'ясною продуктивністю й окремими індексами травних та інших внутрішніх органів та частин тіла вірогідно переважали аналогів (контрольна група) низькоферментного типу. Тварини високоферментного типу більш скороспілі, їх рекомендується вирощувати на м'ясо в коротшому технологічному циклі (18 міс.), що дасть змогу значно підвищити виробництво яловичини в регіоні при розведенні волинської м'ясної породи. Оскільки на яловичину завжди є попит, то тварин низькоферментного типу також слід вирощувати й відгодувати до забійного віку і відповідної кондиції.

1. *Федак В.Д.* Методика комплексної оцінки типу конституції великої рогатої худоби / *Федак В.Д.* // Вісн. Сумського ДАУ. Сер. «Тваринництво». – 2001. – Спецвипуск до Міжнар. наук.-практ. конф. «Перспективи розвитку скотарства у третьому тисячолітті» (Суми, 2–5 жовт. 2001 р.). – С. 178–181.

2. *Федак В.Д.* Біологічні показники яловичини помісних бугайців порід українська чорно-ряба молочна × українська м'ясна різних типів конституції / *В.Д. Федак, Н.М. Федак* // Передгірне та гірське землеробство і тваринництво. – 2007. – Вип. 49. – Ч. II. – С. 191–195.

3. *Федак В.Д.* Елементи розведення м'ясної худоби / *В.Д. Федак, Г.В. Максимів-Ільницька* // Передгірне та гірське землеробство і тваринництво. – 2009. – Вип. 51. – С. 202–207.

4. *Федак В.Д.* Формування м'ясної продуктивності у бугайців поліської м'ясної породи різних типів конституції / *В.Д. Федак, Н.М. Федак, Г.В. Ільницька* // Передгірне та гірське землеробство і тваринництво. – 2010. – Вип. 52. – Ч. 1. – С. 180–185.

5. *Федак В.Д.* Формування комплекції у бичків чорно-рябої породи різного типу конституції при інтенсивному вирощуванні / *Федак В.Д.* // Передгірне та гірське землеробство і тваринництво. – Львів, 2000. – Вип. 42. – С. 208–211.

6. *Федоров В.И.* Ритмичность роста и продуктивность животных / *В.И. Федоров, Г.Т. Хайнацкая* // Рост и развитие с.-х. животных. – К., 1980. – С. 10–11.

7. *Фомичов Ю.П.* Регуляция мясной продуктивности сельскохозяйственных животных / *Фомичов Ю.П.* – М. : Россельхозиздат, 1984. – 116 с.

8. *Щербатый З.Г.* Активность ферментов и развитие молодняка с возрастом отдельных типов черно-пестрого скота / *Щербатый З.Г.* // Науч.-техн. бюлл. УНИИ физиологии и биохимии с.-х. животных. – Львов, 1983. – Вып. 4/3. – С. 48–50.

9. *Шалимов Н.А.* Оценка типа конституции (онтогенеза) при создании пород и типов скота / *Шалимов Н.А.* // Вісн. аграр. науки. – 1994. – № 8. – С. 63–67.

10. Янко Т.С. Методика створення, характерні особливості, сучасний стан та перспективи розвитку волинської м'ясної породи / Янко Т.С. // Держ. плем. книга плем. тварин великої рогатої худоби волинської м'ясної породи. – К. : Видавничий дім «Стилос», 2005. – Т. 1. – С. 8–22.

УБОЙНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И МЯСНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ БЫЧКОВ ВОЛЫНСКОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ РАЗНЫХ КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫХ ТИПОВ

В.Д. Федак, Н.Н. Федак

Институт сельского хозяйства Карпатского региона НААН (Оброшино, Украина)

Приведены результаты исследований мясной продуктивности и убойных показателей бычков волинской мясной породы разных конституциональных типов. Отмечено, что животные высокоферментного типа по убойным показателям (15,9%), мясной продуктивности (9,9%) и отдельным индексам пищеварительных и других внутренних органов, отдельных частей тела превышали аналогов низкоферментного типа.

Ключевые слова: конституциональный тип, индекс оценки, волинская мясная порода, убойные показатели

SLAUGHTER TRAITS AND BEEF PERFORMANCE OF VOLYNIAN BEEF BULLS OF DIFFERENT CONSTITUTIONAL TYPES

V.D. Fedak, N.N. Fedak

Institute of Agriculture in the Carpathian region of NAAS (Obroshine, Ukraine)

The results of studies of beef productivity and slaughter performance of Volynian beef bulls of different constitutional types are given. It was noted that the high enzyme type animals on slaughter traits (15,9%), beef production (9,9%), some digestive and other internal organs' indexes, some body parts exceeded the low enzyme type animals.

Key words: constitution type, index of estimation, Volynian beef breed, slaughter performance



ВІДТВОРЕННЯ

УДК 636.4.082

ВІДТВОРЮВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ СВИНОМАТОК ЗА РІЗНИХ ВАРІАНТІВ ПІДБОРУ

В.О. ГОРОБЕЦЬ

Полтавська державна аграрна академія (Полтава, Україна)

Наведено результати досліджень ефективності використання двопородних свинок, які мають спадкову основу свиноматок і кнурів спеціалізованих порід французької та німецької селекції за їхнього схрещування з кнурами спеціалізованих м'ясних порід селекції англійської фірми JSR для підвищення відтворювальної здатності тварин. Установлено, що метод схрещування не забезпечує гарантованого підвищення усіх ознак відтворювальної здатності.

Найбільш вдалими слід вважати міжпородний підбір помісних свиноматок, одержаних за схрещування великої білої породи французького походження (ВБФП) та дюрк німецького походження (ДНП) з кнурами великої білої породи, дюрк та п'єтрен англійської селекції.

Ключові слова: відтворювальна здатність, свиноматки, міжпородний та внутріпородний підбір

Введення. Свинарство належить до однієї з найбільш економічно вигідних галузей з огляду на біологічні особливості тварин, серед яких багатоплідність, інтенсивність росту, вихід м'яса тощо. Вихід поросят від однієї свиноматки за рік слугує важливим чинником успішного відтворення стада та прибутковості галузі. Але відтворювальна здатність свиноматок зумовлена як генетичними, так і паратиповими факторами, причому більший вплив належить саме останнім. Враховуючи, що наразі в Україні виробництво свинини здійснюється не

© В.О. Горобець, 2013

Розведення і генетика тварин. 2013. № 47

лише від наявних 12 порід, але й від типів і ліній зарубіжної селекції, особливої актуальності набуває саме питання виявлення кращих варіантів підбору свиноматок і кнурів як за чистопородного розведення, так і схрещування, які добре поєднуються між собою та стійко передають свій генетичний потенціал потомству. Адже саме використання вдалих поєднань забезпечує підвищення продуктивності тварин і впливає на конкурентоспроможність галузі.

Відтворювальну здатність свиней відносять до ознаки з низьким рівнем успадкованості, тому лише відбором та оцінюванням за фенотипом досить складно досягнути значного підвищення її основних показників, серед яких багатоплідність та кількість поросят при відлученні. Ефективними методами підвищення багатоплідності вважають схрещування, а також поєднання гетерозиготних тварин у межах внутріпородних типів і ліній, проте і вони не завжди забезпечують одержання бажаних результатів [2–4]. Нерівноцінний вплив кнурів зарубіжної селекції на репродуктивну якість чистопородних і помісних свиноматок виявлено в дослідженнях [5], де схрещування помісних свиноматок велика біла × білоруська м'ясна (ВБ × БМ) та білоруська м'ясна × ландрас (БМ × Л) з кнурами порід ландрас і йоркшир канадської селекції забезпечило суттєве підвищення багатоплідності та маси гнізда поросят при відлученні. Однак використання кнурів породи дюрок канадської селекції як батьківської породи при схрещуванні з вищевказаними двопородними свиноматками, навпаки, призвело до зниження багатоплідності й маси гнізда поросят при відлученні порівняно із чистопородним розведенням свиней великої білої породи.

На доцільність внутріпородного кросування свиней різного походження у великій білій породі для одержання ефекту гетерозису за основними ознаками відтворювальної здатності вказано у роботі [6]. Але за результатами інших досліджень для підвищення відтворювальної здатності свиноматок у великій білій породі за внутріпородної селекції потрібно враховувати поєднуваність ліній кнурів і родин свиноматок [1]. Отже, огляд літературних джерел вказує на можливість покращання продуктивності свиноматок завдяки методам розведення, але при цьому потрібно враховувати поєднуваність порід чи ліній. Метою проведеного дослідження був аналіз відтворювальної здатності свиноматок за різних варіантів підбору для її підвищення.

Матеріал і методи досліджень. У ТОВ «Агрікор-Холдинг» Чернігівської області було проведено парування двопородних свиноматок з кнурами великої білої породи (ВБАП), дюрок (ДАП) та п'єтрен (ПАП) англійського походження фірми JSR. Двопородних (помісних) самок було одержано за схрещування свиноматок великої білої породи французького походження (ВБФП) з кнурами порід велика біла (ВБНП), ландрас (ЛНП) і дюрок (ДНП) німецького походження. Свиней зарубіжного походження відносять до порід м'ясного напрямку продуктивності. Для проведення експериментальних досліджень було сформовано сім піддослідних груп: I група (контрольна) – двопородні свиноматки (ВБФП × ВБНП) схрещувалися з кнурами великої білої породи англійського походження (ВБАП), II (дослідна) – двопородні свиноматки (ВБФП ×

× ЛНП) схрещувалися з кнурами великої білої породи англійського походження (ВБАП); III (дослідна) – двопородні свиноматки (ВБФП × ЛНП) схрещувалися з кнурами породи дюрок англійського походження (ДАП); IV (дослідна) – двопородні свиноматки (ВБФП × ЛНП) схрещувалися з кнурами породи п'єтрен англійського походження (ПАП); V (дослідна) – двопородні свиноматки (ВБФП × ДНП) схрещувалися з кнурами великої білої породи англійського походження (ВБАП); VI (дослідна) – двопородні свиноматки (ВБФП × ДНП) схрещувалися з кнурами породи дюрок англійського походження (ДАП); VII (дослідна) – двопородні свиноматки (ВБФП × ДНП) схрещувалися з кнурами породи п'єтрен англійського походження (ПАП). У дослідженнях враховували багатоплідність, кількість поросят при відлученні, середню масу однієї голови та живу масу гнізда поросят при відлученні у віці 28 днів. Показники відтворювальної здатності свиноматок визначали за загальноприйнятими методиками у свинарстві. Статистичний аналіз одержаних результатів проведено загальноприйнятими методами.

Результати досліджень, їхнє обговорення. Оцінювання відтворювальної здатності свиноматок дає змогу з упевненістю передбачити ефективність розведення свиней та використання відповідних порід. За результатами наших досліджень виявлено, що найвищою багатоплідністю характеризувалися двопородні свиноматки контрольної групи – 11,3 гол. на опорос (таблиця). Перевага свиноматок контрольної групи за даним показником над представниками дослідних груп становила 0,4–1,2 гол. за вірогідної різниці лише з тваринами III дослідної групи. Можна з упевненістю стверджувати, що на показники багатоплідності чинить вплив не лише метод розведення, але й значною мірою походження матері та батька, тобто їхня спадкова основа. Підтвердженням цього слугують показники багатоплідності свиноматок піддослідних груп, які варіюють у межах 11,3–10,1 гол. При цьому свиноматки III, VI і VII дослідних груп мали найменшу багатоплідність. Тобто в даному разі поєднання спадкової основи батьківських порід ландрас і дюрок німецького походження з великою білою породою, дюрок та п'єтрен англійського походження не сприяє підвищенню багатоплідності свиноматок, що може пояснюватися належністю тварин до м'ясного напрямку продуктивності, у яких, як відомо, відтворювальні та м'ясні ознаки мають зворотну кореляцію.

Незалежно від кількості поросят та їхньої живої маси при народженні тривалість поросного періоду серед свиноматок піддослідних груп становила 114,7–115,7 дня, що узгоджується з біологічною особливістю виду. Оцінюючи вплив різних варіантів міжпородного та внутріпородного підбору свиней на великоплідність поросят, тобто живу масу однієї голови при народженні, слід вказати на ймовірну різницю між тваринами контрольної групи та III, IV, V і VII дослідних груп за переваги останніх. Так поросята контрольної групи при народженні мали вірогідно меншу на 0,1 кг живу масу порівняно із тваринами III дослідної групи на 0,18 кг – IV дослідної групи; на 0,17 кг – V дослідної групи і 0,07 кг – VII дослідної групи. Між тваринами контрольної та інших

дослідних груп встановлено аналогічну різницю, хоча і невірогідну, на підставі чого можна зробити висновок про вплив схрещування на підвищення живої маси однієї голови при народженні, яка може бути селекційною ознакою при доборі тварин.

Відтворювальна здатність свиноматок

Піддослідні групи	Кількість свиноматок, гол.	Показники				
		багато-плідність, гол.	велико-плідність, кг	кількість поросят при відлученні у віці 28 дн., гол	середня маса 1 гол. при відлученні, кг	жива маса гнізда поросят при відлученні, кг
I контрольна	15	11,3± 0,502	1,34± 0,026	9,9± 0,363	6,4± 0,174	62,4± 1,728
II дослідна	15	10,9± 0,539	1,40± 0,035	9,6± 0,349	6,5± 0,192	61,7± 1,707
III »	15	10,1± 0,331	1,44± 0,027*	9,1± 0,284	7,1± 0,177**	63,4± 1,234
IV »	15	10,5± 0,424	1,52± 0,058**	9,3± 0,301	7,2± 0,195*	65,9± 1,307
V »	15	10,5± 0,401	1,51± 0,057*	9,6± 0,273	7,5± 0,171**	70,7± 1,147***
VI »	15	10,3± 0,361	1,42± 0,030	9,4± 0,254	7,4± 0,183**	69,0± 0,815***
VII »	15	10,1± 0,371	1,41± 0,024*	9,4± 0,276	7,7± 0,142***	71,6± 1,446***

Примітка. *P > 0,95; **P > 0,99; ***P > 0,999 (за порівняння до першої групи).

Безперечно, висока багатоплідність свиноматок не гарантує високої збереженості поросят до відлучення, що узгоджується здебільшого із негативною кореляцією між цими ознаками. У наших дослідженнях незалежно від методу розведення свиней та їхньої спадкової основи втрата поросят від народження до відлучення у середньому становила 6,9–12,4%, що було у межах допустимих норм. Найменша кількість тварин до відлучення була у свиноматок контрольної групи – 9,9 поросяти, які мали і найменшу живу масу поросят при народженні та найвищу багатоплідність.

Поєднання спадкової основи свиноматок і кнурів VII дослідної групи забезпечило поросяттам найвищу живу масу однієї голови при відлученні серед піддослідних груп – 7,7 кг. Генетичні фактори, серед яких, у першу чергу, здатність до індивідуального росту в підсисний період, зумовили нащадкам великої білої породи, одержаним за кросування тварин французької, німецької та англійської основ, найменшу живу масу при відлученні – 6,4 кг. Загалом свині контрольної групи поступалися молодняку дослідних груп за живою масою

однієї голови при відлученні на 0,1–1,3 кг (за вірогідної різниці показника), крім II дослідної групи. Один з основних показників відтворювальної здатності свиноматок є жива маса гнізда поросят при відлученні. Результати наших досліджень вказують на доцільність схрещування двох породних свиноматок (ВБФП × ДНП) з кнурами великої білої породи англійського походження (V дослідна група), свиноматок (ВБФП × ДНП) з кнурами породи дюрорк англійського походження (VI дослідна група) та свиноматок (ВБФП × ДНП) з кнурами породи п'єтрен англійського походження (VII дослідна група), яке забезпечило одержання живої маси гнізда поросят при відлученні на рівні 70,7 кг; 69,0 і 71,6 кг відповідно. При цьому свині великої білої породи контрольної групи поступалися за даною ознакою тваринам дослідних груп на 1,0–9,2 кг, за винятком II дослідної групи. Тобто використання трипородного схрещування свиней спеціалізованих порід зарубіжної селекції у цілому сприяє підвищенню таких ознак відтворювальної здатності, як кількість поросят до відлучення, середня маса однієї голови та жива маса гнізда поросят при відлученні, порівняно із внутріпородним підбором свиней великої білої породи. Проте міжпородний підбір свиноматок (ВБФП × ЛНП) з кнурами великої білої породи англійського походження виявився не таким ефективним за відтворювальною здатністю, як міжпородне схрещування інших досліджуваних порід чи внутріпородне кросування великої білої породи різної зарубіжної селекції, тому його не бажано використовувати для одержання великої кількості поросят на опорос.

Висновки. Використання двопородних свиноматок, одержаних за схрещування свиноматок великої білої породи французького походження (ВБФП) з кнурами порід велика біла (ВБНП), ландрас (ЛНП) і дюрорк (ДНП) німецького походження, за схрещування з кнурами великої білої породи, дюрорк та п'єтрен англійської селекції фірми JSR, не забезпечує гарантованого підвищення усіх ознак відтворювальної здатності. Висока багатоплідність свиноматок великої білої породи за внутріпородного підбору не корелює з іншими показниками відтворювальної здатності. Поєднання спадкової основи свиноматок великої білої породи французької та дюрорк німецької селекції за подальшого схрещування з кнурами порід велика біла, дюрорк і п'єтрен англійської селекції сприяє збільшенню кількості поросят при відлученні, середньої маси однієї голови та гнізда поросят при відлученні у 28 днів, що може бути врахованим для підвищення рентабельності галузі.

1. Бодряшова К.В. Поєднуваність свиней різної селекції у великій білій породі / Бодряшова К.В. // Вісн. Сумського нац. аграр. ун-ту. – 2013. – Вип. 1 (22). – С. 17–19.

2. Горбачева Н.О. Репродуктивні якості свиноматок великої білої породи при різних поєднаннях / Горбачева Н.О. // Вісн. Полтавської держ. аграр. академії. – № 5–6. – 2002. – С. 114.

3. Лебедев Ю.В. Генетические основы селекции свиней / Лебедев Ю.В. // Племенное дело в свиноводстве. – М. : Колос, 1982. – С. 134–177.

4. Солоховых А.Г. Репродуктивные качества свиноматок в разных вариантах скрещивания / А.Г. Солоховых, А.В. Овчинников, Г. Калашникова // Перспективы развития свиноводства: Междунар. науч.-практ. конф., 8–9 июля 2003 г. : тез. докл. – Гродно, 2003. – С. 74.

5. Федоренкова Л.А. Продуктивность помесных свиноматок при скрещивании с хряками мясных пород / Л.А. Федоренкова, Т.В. Батковская, Е.А. Янович // Пути интенсификации отрасли свиноводства в странах СНГ : Междунар. науч.-практ. конф., 26–27 августа 2009 г. : тез. докл. – Гродно, 2009. – С. 102–104.

6. Федорнак В.І. Репродуктивні якості свиноматок великої білої породи при внутрішньолінійних і міжлінійних поєднуваннях / Федорнак В.І. // Вісн. аграр. науки. – 2003. – № 4. – С. 72–74.

ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ СВИНОМАТОК ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ПОДБОРА

В.А. Горобец

Полтавская государственная аграрная академия (Полтава, Украина)

Изложены результаты исследований эффективности использования двухпородных свиноматок, имеющих наследственность свиноматок и хряков специализированных пород французской и немецкой селекции при их скрещивании с хряками специализированных мясных пород селекции английской фирмы JSR для повышения воспроизводительной способности животных. Установлено, что метод скрещивания не обеспечивает гарантированного повышения всех показателей воспроизводительной способности. Наиболее удачным оказался межпородный подбор помесных свиноматок (крупная белая порода французского происхождения × дюрок немецкого происхождения) с хряками крупной белой породы, дюрок и пьетрен английской селекции.

Ключевые слова: воспроизводительная способность, свиноматки, межпородный и внутрипородный подбор

REPRODUCTIVE ABILITY OF SOWS AT DIFFERENT VARIANTS OF MATING

V.A. Gorobets

Poltava State Agrarian Academy (Poltava, Ukraine)

There were stated the results of investigation of efficiency of use of two-breed (breeds of French and German selection) crossed sows when mated with boars of specialized meat breeds of English company JSR to improve the reproductive ability of animals. It was found that the crossing method does not provide a guaranteed improvement of all reproductive ability traits. The most successful was interbreed mating of crossed sows (Large White breed of French origin × Duroc of German origin) with boars of Large White breed, Duroc and Pietrain of English selection.

Key words: reproductive ability, sows, interbreed and innerbreed mating

ЗБЕРЕЖЕННЯ

УДК 636.2.034.082.2

ПРОБЛЕМИ ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНОФОНДУ ЛЕБЕДИНСЬКОЇ ПОРОДИ

Д.М. БАСОВСЬКИЙ

*Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)
irgt.infsystem@ukr.net*

Вивчено основні проблеми збереження лебединської породи: породна належність тварин бурої худоби з різною часткою спадковості за швіцькою породою; недостатня кількість бугаїв лебединської породи, яких допущено до відтворення маточного поголів'я; високий рівень інбридингу та різке зниження поголів'я у популяції лебединської породи. Запропоновано шляхи розв'язання виявлених проблем.

Ключові слова: лебединська порода, зникаюча порода, збереження генофонду, інбридинг, велика рогата худоба

Введення. В Україні швидкими темпами відбувається процес поглинання місцевих порід великої рогатої худоби через використання племінного матеріалу комерційних порід. У найбільш критичній ситуації в скотарстві опинилися сіра українська, білоголова українська та лебединська породи. Рациональне розв'язання проблеми контрольованого збереження біорізноманіття у тваринництві України потребує розроблення і впровадження методології регулювання генетичних ресурсів. Було розроблено у 2009 р. «Програму збереження генофонду основних видів сільськогосподарських тварин в Україні на період до 2015 року» [1], а у 2012 р. «Регіональну програму збереження генофонду лебединської породи» [2]. Однак постає багато питань, без вирішення яких неможливе подальше існування лебединської породи.

© Д.М. Басовський, 2013

Метою роботи було вивчити проблеми збереження лебединської породи.

Матеріали і методи досліджень. Проведено аналіз даних Державного реєстру суб'єктів племінної справи у тваринництві за 2012 р. [3], каталогів бугаїв молочних і молочно-м'ясних порід, допущених для відтворення маточного поголів'я в 2004–2013 рр., первинного племінного обліку племінного заводу ПАТ ПЗ «Михайлівка».

Здійснено генеалогічний аналіз родоводів тварин лебединської породи. Коефіцієнт інбридингу (F_x) розраховували за формулою Райта у модифікації Д.А. Кисловського [4]. Бази даних продуктивних і племінних якостей тварин створено у програмах СУМС «Інтесел Орсек» та Microsoft Excel.

Результати досліджень та їхнє обговорення. Лебединську породу було створено завдяки багаторічній праці українських селекціонерів шляхом вбирного схрещування сірої української худоби зі швіцькими бугаями та розведенням «у собі» помісних тварин 2–4 поколінь і затверджено як селекційне досягнення у 1950 р. [5]. Це порода комбінованого напряму продуктивності, тварини якої характеризуються добрими молочними якостями, високою пристосованістю до місцевих умов, високою жирномолочністю (3,8–4,0%), продуктивним доглядом (у середньому 6–7 лактацій), стійкістю проти захворювань [2, 5–7]. Згідно з «Програмою збереження генофонду основних видів сільськогосподарських тварин в Україні на період до 2015 року» лебединську породу віднесено до першої категорії (вітчизняний генофондовий об'єкт, який перебуває на межі зникнення) [1]. Такі генофондові об'єкти заслуговують найбільшої уваги.

Згідно з «Програмою вдосконалення селекції бурої худоби в регіонах України на 2004–2015 роки» поліпшення бурої худоби в Україні проводилось шляхом інтенсивного використання швіцької породи американської, австрійської та німецької селекції [8]. У 2009 р. ця робота завершилася створенням української бурої молочної породи [7]. За результатами багаторічної роботи було підвищено молочну продуктивність і технологічні якості української бурої молочної породи. У зв'язку з цим виникає перша проблема: як розрізнити тварин української бурої молочної та лебединської порід. У багатьох наукових працях, присвячених вищевказаним породам, ніхто цієї проблеми не піднімав. Наразі до лебединської породи відносять тварин бурої худоби, що перебувають у власності суб'єктів племінної справи у тваринництві, які мають статус племзаводу або племрепродуктора з розведення лебединської породи. До української бурої молочної породи відносять тварин бурої худоби, що є у власності суб'єктів племінної справи у тваринництві, які мають статус племзаводу або племрепродуктора з розведення української бурої молочної породи.

За даними Держплемреєстру [3], на 01.01.2013 р. в Україні налічується 1198 корів лебединської породи (табл. 1). Але невідомо, наскільки ця інформація відповідає даним індивідуального обліку в господарствах. Приміром, у базовому зі збереження лебединської породи племзаводі «Михайлівка», за даними Держплемреєстру [3], налічується 204 корови лебединської породи. Деякі вчені [9] вже відносять цих тварин до бурої молочної породи. За даними індивідуального племобліку, в цьому стаді лише 3% є чистопородними тваринами

лебединської породи. Оскільки шляхи вдосконалення лебединської породи, з одного боку, передбачали як розведення «у собі» помісних тварин III–IV поколінь (сірої української та швіцької порід), так і подальше схрещування зі швіцькими бугаями [5, 8], а, з іншого боку, при створенні української бурої молочної породи схемою схрещування було заплановано отримання помісних тварин з часткою кровності за поліпшувальною швіцькою породою 62,5–75% [6], вважаємо за доцільне до лебединської породи відносити також тварин бурої худоби з часткою спадковості за швіцькою породою нижче 62,5%. Відповідно до української бурої молочної породи відносити тварин бурої худоби з часткою спадковості за швіцькою породою 62,5% і вище. Виходячи з вищезазначеного, у племзаводі «Михайлівка» налічується лише 69 корів лебединської породи.

1. Генетичні ресурси лебединської породи в Україні

Назва генофондового об'єкта	Статус	Всього, гол.	З них	
			бугаїв	корів
ДП «Сумський державний селекційний центр»	СЦ	13	11	–
Національний банк генетичних ресурсів тварин ІРГТ НААН	СЦ	5	5	–
ПАТ «Менське племпідприємство з племінної справи у тваринництві»	ПП	2	2	–
ПАТ «Михайлівка»	ПЗ	204	–	204
ПАТ «Сад»	ПЗ	150	–	150
ПСП «Комишанське»	ПР	293	–	293
ТОВ «Мрія»	ПР	300	–	300
ТОВ «Переможець»	ПР	174	–	174
ТОВ «Промінь»	ПР	77	–	77
Усього голів		1211	13	1198

Примітка. СЦ – селекційний центр; ПП – племпідприємство; ПЗ – племзавод; ПР – племрепродуктор.

Наступна проблема – відсутність достатньої кількості бугаїв, яких допущено до відтворення маточного поголів'я лебединської породи. За останні 10 років було допущено дуже мало бугаїв лебединської породи (2003 і 2013 рр. – 5; 2004 р. – 6; 2005 і 2007 рр. – 1; 2006 і 2007 рр. – 3; 2009–2010 рр. – 2). У 2011–2012 рр. бугаїв лебединської породи взагалі не було допущено до відтворення, внаслідок чого через необмежене використання плідників швіцької породи поголів'я лебединської породи (тут і далі – чистопородні та помісі з часткою спадковості за лебединською породою понад 37,5%) за останні 10 років поступово зменшувалось.

Для розв'язання цієї проблеми потрібно, по-перше, при оцінці, атестації та допуску бугаїв лебединської породи відокремити їх від інших тварин бурої худоби. По-друге, вимоги до бугаїв зникаючих порід при атестації та допуску повинні бути мінімальними.

Це питання було вирішено у 2013 р. за ініціативою Інституту розведення і генетики тварин НААН (протокол засідання вченої ради інституту № 410 від 01.11.2012 р.) та наказом Мінагрополітики № 34 від 24.01.2013 р. Згідно з цим наказом для збереження генофонду вітчизняних порід до Каталогу плідників молочних та молочно-м'ясних порід, допущених до відтворення маточного поголів'я у 2013 р., було введено окремий розділ «Резервний генофонд». У цьому розділі представлено усіх чистопородних бугаїв (5 гол.) лебединської породи, сперма яких зберігається в Україні. Згідно з «Регіональною програмою збереження генофонду лебединської породи» [3] пропонується залучати до відтворення генетичний матеріал тільки чистопородних плідників незалежно від рівня їхньої племінної цінності. З огляду на невелику кількість чистопородних бугаїв до відтворення потрібно допускати і помісних тварин (з часткою спадковості за лебединською породою понад 37,5%). Такі бугаї, крім того, мають більш високий рівень племінної цінності порівняно з чистопородними тваринами (табл. 2). Особливу увагу слід звернути на наступних бугаїв: Рогіз 5002 (СІ=533), Сніжок 6851 (СІ=402) та Леопард 8105 (СІ=202).

2. Бугаї лебединської породи, спермопродукція яких зберігається у генофондових об'єктах

Кличка, ідентифікаційний номер	Лінія	Кровність	Племінна цінність (СІ)	Кількість доз	Фх
Буйний 102	Чуткого 4281	ЛЕ100	84	3914	0,00
Зоркий 9902	Макета 4307	ЛЕ100	18	3627	0,00
Карий 12973	Балкона 1799	ЛЕ100	84	3721	0,00
Дикий 7933	Балкона 1799	ЛЕ100	-564	4391	0,00
Качур 5296	Лака 964	ЛЕ100	0	7169	3,13
Сніжок 6851	Сюпріма 124652	ЛЕ87,5ШВ12,5	402	13314	2,34
Аркан 16326	Балкона 1799	ЛЕ75ШВ25	101	200	3,13
Абрек 17546	Сюпріма 124652	ЛЕ75ШВ25	120	207	0,20
Чистий 17035	Балкона 1799	ЛЕ75ШВ25	-158	5799	0,00
Залп 17505	Сюпріма 124652	ЛЕ75ШВ25	-58	6186	0,20
Рогіз 5002	Бравого 1510	ЛЕ75ШВ25	533	7747	3,13
Зайчик 17000	Балкона 1799	ЛЕ75ШВ25	0	8989	0,39
Леопард 8105	Сюпріма 124652	ЛЕ68,8ШВ31,2	202	11809	3,52

Примітка. СІ – селекційний індекс; ЛЕ – частка кровності помісних тварин за лебединською породою; ШВ – частка кровності помісних тварин за швіцькою породою.

Загальновідомо, що із зростанням рівня інбридингу в популяції з'являються тварини з уродженими вадами розвитку, через інbredну депресію знижується відтворювальна здатність самиць та спостерігається негативний вплив на інші господарські корисні ознаки [10–14]. Особливої актуальності збереження генетичного різноманіття набуває зі зниженням поголів'я зникаючих порід, які постійно перебувають під реальною загрозою інbredної депресії [1, 15]. Таким чином, моніторинг рівня інбридингу в популяції є важливою складовою програмою збереження малочисельних та зникаючих порід [10]. Установлено, що 61,5% лебединських плідників отримано при застосуванні помірного та віддаленого інбридингу. Середній показник коефіцієнта інбридингу за Райтом серед інbredних бугаїв становив 2,01% (табл. 2).

Було оцінено рівень інбридингу в популяції корів лебединської породи (чистопородні та помісі з часткою спадковості за швіцькою породою нижче 62,5%) племзаводу «Михайлівка». Виявлено, що 24,6% корів отримано при застосуванні інбридингу. З них із застосуванням тісного – 5,9%, близького – 5,9, помірного – 70,6 та віддаленого – 17,6% інбридингу відповідно. Середній показник коефіцієнта інбридингу за Райтом серед інbredних корів сягав 4,6%. Згідно з «Регіональною програмою збереження генофонду лебединської породи» [2] пропонується використовувати як основний метод підбору бугаїв, кросліній. Доведено, що у досліджуваній популяції лебединської породи племзаводу «Михайлівка» деякі з лебединських бугаїв різних ліній (з наявною спермопродукцією) є батьками багатьох корів, приміром Рогіз 5002, Аркан 16326 та Буйний 102. Виходячи з цього і враховуючи високий рівень інbredних тварин у популяції та різке зниження поголів'я, пропонується використовувати індивідуальний підбір бугаїв у племзаводі «Михайлівка». Тільки таким чином можна зупинити подальше зростання рівня інбридингу в популяції й уникнути одержання тварин з тісним та близьким інбридингом.

Висновки. Визначено основні напрями збереження лебединської породи: до лебединської породи слід відносити тварин з часткою спадковості за швіцькою породою нижче 62,5% та чистопородних, а при оцінці й атестації та допуску бугаїв лебединської породи відокремити їх від інших тварин бурої худоби зменшивши рівень вимог щодо племінної цінності; проводити постійне оцінювання рівня інбридингу в популяціях лебединської породи та індивідуальний підбір плідників.

Подяка. Автор висловлює щиру подяку Б.Є. Подобі та Р.В. Братушці за рекомендації при обговоренні наукової роботи.

1. *Програма збереження генофонду основних видів сільськогосподарських тварин в Україні на період до 2015 року / Ю.Ф. Мельник [та ін.]; заг. наук. ред. І.В. Гузева. – К.: Арістей, 2009. – 132 с.*

2. *Регіональна програма збереження генофонду лебединської породи / М.І. Башенко [та ін.]. – Суми, 2012. – 31 с.*

3. *Державний реєстр суб'єктів племінної справи у тваринництві за 2012 рік / ДП «Головний науково-виробничий селекційно-інформаційний центр у тва-*

ринництві Інституту розведення і генетики тварин НААН». – Режим доступу: [www/ URL: http://animalbreedingcenter.org.ua/derjplemreestr](http://animalbreedingcenter.org.ua/derjplemreestr) – 10.08.2013 р. – Загол. з екрана.

4. *Кравченко Н.А.* Разведение сельскохозяйственных животных / Кравченко Н.А. – М.: Колос, 1973. – 486 с.

5. *Яценко А.Е.* Лебединская порода крупного рогатого скота / Яценко А.Е. – К.: БМТ, 1997. – 300 с.

6. *Племінна робота: довідник / М.З. Басовський [та ін.]; за ред. М.В. Зубця, М.З. Басовського.* – К.: ВНА «Україна», 1995. – 440 с.

7. *Підсумки створення та методологічний аспект перспективи селекції української бурої молочної породи / В.П. Буркат [та ін.] // Методологія наукових досліджень з питань селекції, генетики та біотехнології у тваринництві: матеріали наук.-теорет. конф., присвяч. пам'яті акад. УААН В.П. Бурката; за ред. І.В. Гузева.* – К.: Аграрна наука, 2010. – С. 17–19.

8. *Програми удосконалення селекції бурої худоби в регіонах України на 2004–2015 роки / Д.М. Микитюк [та ін.].* – К., 2004. – 79 с.

9. *Українська бура молочно порода: сучасний стан та перспективи селекції / В.І. Ладика [та ін.] // Розведення і генетика тварин: міжвід. темат. наук. зб.* – К., 2011. – Вип. 45. – С. 123–133.

10. *Кузнецов В.М.* Инбридинг в животноводстве: методы оценки и прогноза / Кузнецов В.М. – Киров: НИИСХ Северо-Востока, 2000. – 66 с.

11. *Петренко І.П.* Продуктивність корів від різних варіантів підбору в стадах новостворених молочних порід / І.П. Петренко, А.П. Кругляк, В.А. Цапко // Розведення і генетика тварин: міжвід. темат. наук. зб. – К., 2010. – Вип. 44. – С. 143–146.

12. *González-Recio O.* Inbreeding depression on female fertility and calving ease in Spanish dairy cattle / O. González-Recio, E. López de Maturana, J.P. Gutiérrez // J. Dairy Sci. – 2007. – Dec; 90(12). – P. 5744–5752.

13. *Hansen L.B.* Monitoring the worldwide genetic supply for cattle with emphasis on managing crossbreeding and inbreeding / Hansen L.B. // In Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18. – 2006. – P. 248–253.

14. *Smith L.A.* The effects of inbreeding on the lifetime performance of dairy cattle / L.A. Smith, B.G. Cassell, R.E. Pearson // J. Dairy Sci. – 1998. – Oct; 81(10). – P. 2729–2737.

15. *Методологічні аспекти збереження генофонду сільськогосподарських тварин / М.В. Зубець [та ін.].* – К.: Аграрна наука, 2007. – 120 с.

ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДА ЛЕБЕДИНСКОЙ ПОРОДЫ

Д.Н. Басовский

Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)

Изучены основные проблемы сохранения лебединской породы: породная принадлежность животных бурого скота с разной долей наследственности по швицкой породе;

недостаточное количество быков лебединской породы, допущенных до воспроизводства маточного поголовья; высокий уровень инбридинга и резкое снижение поголовья в популяции лебединской породы. Предложены пути решения выявленных проблем.

Ключевые слова: лебединская порода, исчезающая порода, сохранение генофонда, инбридинг, крупный рогатый скот

RESERVATION OF GENE POOL OF LEBEDINSKA BREED PROBLEMS

D.M. Basovskyi

Institute of Animal Breeding and Genetics NAAN (Chubinskoe, Ukraine)

The basic problems of Lebedinska breed reservation are studied: pedigree belonging of animals of brown cattle with the different part of heredity on a Brown Swiss breed; absence of sufficient amount of bulls of Lebedinska breed, admitted to reproduction of cows; a high level of inbreeding and fall-off of stock are in population of Lebedinska breed. The ways of decision of the educed problems are offered.

Key words: Lebedinska breed, vanishing breed, reservation of gene pool, inbreeding, cattle



ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Розведення та генетика тварин» відповідає вимогам Переліку наукових фахових видань України, затвердженого наказом МОНмолодьспорту України від 17 жовтня 2012 року № 1111, і є фаховим виданням із сільськогосподарських наук.

До публікації у збірнику приймаються оглядові, експериментальні та методичні статті. Представлені матеріали мають бути актуальними, оригінальними, не опублікованими раніше в інших виданнях, стилістично й орфографічно відредагованими. Стаття повинна розкривати зміст однієї з рубрик збірника: генетика, біотехнологія, розведення та селекція, відтворення сільськогосподарських тварин, збереження біорізноманіття.

ПОРЯДОК ПОДАННЯ РУКОПИСІВ

Рукопис статті подається до редакції українською, російською або англійською мовою у двох паперових примірниках (один із них підписаний авторами) і на електронному носії чи надсилається окремим файлом на E-mail відповідальному секретарю. Кожна стаття проходить обов'язкове рецензування. За наявності зауважень автор доопрацьовує статтю, відмічаючи іншим кольором виправлений текст в електронному варіанті статті. Після видавничої верстки автори підписують статті, за іногородніх авторів статтю підписує відповідальний секретар.

ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ:

✓ обсяг експериментальної статті, включаючи реферати і список літератури, – не менше 12–15 сторінок, оглядової – не більше 25–30;

✓ набір у текстовому редакторі Microsoft Word, шрифт Times New Roman, кегль 14, міжрядковий інтервал основного тексту 1,5, абзацний відступ – 0,5 см;

✓ список літератури, реферати, таблиці, а також індекси у формулах набираються 12 кеглем;

✓ верхнє, лівє і правє поля – 20 мм, нижнє – 25 мм;

✓ орієнтація сторінок книжна;

✓ використання автоматичних кінцевих і звичайних виносок у статті не допускається;

✓ таблиці набираються безпосередньо в програмі Microsoft Word і нумеруються послідовно, ширина таблиць – 100%;

✓ формули прописуються в редакторі формул Microsoft Equation, доступному Word;

✓ малюнки вставляються в текст у форматі JPG;

✓ список літератури подається в кінці статті у порядку згадування у тексті, порядкові номери посилань наводяться у квадратних дужках.

ОБОВ'ЯЗКОВІ СКЛАДОВІ СТАТТІ

- **УДК.**
- **НАЗВА СТАТТІ** (напівжирний шрифт).

Ініціали та прізвище автора, назва установи, де виконано роботу (вказати місто та країну) (звичайний шрифт курсивом), E-mail автора.

- Основному тексту передує *реферат* українською мовою (8–12 рядків, курсивом).

- Після реферату подають **КЛЮЧОВІ СЛОВА** (від 5 до 10 слів чи словосполучень звичайним шрифтом).

- Розділи повинні починатися такими заголовками, виділеними напівжирним шрифтом:

Введення – постановка проблеми у загальному вигляді, її актуальність і наукове значення; аналіз останніх зарубіжних та вітчизняних публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор; виділення нерозв'язаних раніше частин загальної проблеми, яким присвячується стаття; формулювання цілей досліджень, постановка завдання.

Матеріали і методи досліджень – установи, де проводились дослідження та збір матеріалів; опис дизайну дослідження; методи та методики, використані в роботі; методи статистичного аналізу.

Результати досліджень, їхнє обговорення – виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням та аналізом отриманих наукових результатів.

Висновки – наукова новизна, теоретичне і практичне значення дослідження, економічний ефект від запровадження отриманих результатів, перспективи подальших наукових розробок у даному напрямі.

Подяка – вираження офіційної подяки окремим організаціям та особам, які сприяли організації та проведенню наукових досліджень.

- До списку літератури рекомендується включати не менше 10 джерел для експериментальних і до 30 – для оглядових статей. Бібліографічний опис використаних джерел подається за вимогами ДСТУ ГОСТ 7.1:2006.

Після списку літератури розміщують реферати російською та англійською мовами, які подають у такій послідовності: ініціали і прізвища авторів, назва статті (великими літерами), назва установи, коротке викладення основних положень статті, ключові слова, ідентичні українському варіанту.

В одному випуску збірника може бути надруковано не більше двох статей одного автора (співавтора).

Редакція наукового збірника не несе відповідальності за зміст статей і вірогідність представлених даних, але залишає за собою право відбору, рекомендацій та зауважень щодо змісту надісланих матеріалів. Статті, оформлені не за правилами, не реєструються і не розглядаються.

ДО СТАТТІ ДОДАЮТЬСЯ:

✓ рецензія провідного вченого з даного напрямку, кандидата (для авторів без наукового ступеня та аспірантів) або доктора наук;

✓ контактна інформація – прізвище, ім'я, по батькові автора, посада, науковий ступінь і вчене звання, повне найменування установи (організації), адреса, телефони і E-mail.

Якщо стаття написана колективом авторів, необхідно надати відомості про кожного з них.

Поштова адреса редакції:

Інститут розведення і генетики тварин НААН
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське, Бориспільський р-н, Київська обл., Україна, 08321

E-mail: irgtvudav@ukr.net

Телефони для довідок: **(04595) 3-00-45; 3-00-41.**



НАУКОВЕ ВИДАННЯ

РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКА ТВАРИН

Міжвідомчий тематичний
науковий збірник
Заснований у 1970 р.

Випуск **47**

Редактор: *С.Д. Шевченко*
Комп'ютерна верстка: *О.В. Денделєвої*
Дизайн обкладинки: *І.Г. Хороший*
Коректори: *Л.П. Захарченко, А.О. Гмир*

Підписано до друку 04.06.2013 р. Формат 60×84 ¹/₈.
Гарнітура Таймс. Папір офсетний. Друк офсетний.
Ум. друк. арк. 18,2. Обл.-вид. 14,5.
Наклад 300 пр. Зам. №13-71.

Державне видавництво «Аграрна наука» НААН
Свідоцтво про державну реєстрацію № 371868 від 13.12.2010 р.
вул. Васильківська, 37, Київ, 03022
Тел. (044) 257-85-27;
e-mail: agrarnanauka@yandex.ru

Видання надруковано у друкарні
ТОВ «Задруга»
вул. Фрунзе, 86, Київ 04080
Тел. 239-19-77;
e-mail: 2010zadruga@gmail.com