

УДК 636.27(477).033.082:575.113.2/.22:591.1

DOI: <https://doi.org/10.31073/abg.67.08>

АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ПОПУЛЯЦІЇ ПОЛІСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ ЗА МОЛЕКУЛЯРНИМИ МАРКЕРАМИ ЯКІСНИХ ПОКАЗНИКІВ М'ЯСНОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ

Ю. О. ЛЕМЕШКО, П. П. ДЖУС

Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН (Чубинське, Україна)

<https://orcid.org/0009-0009-5796-0436> – Ю. О. Лемешко

<https://orcid.org/0000-0002-4808-0260> – П. П. Джус

svic_ua@ukr.net

Наведено результати визначення генотипів тварин поліської м'ясної породи за генами тиреоглобуліну (TG 5) і калпаїну (CAPN1 530). Для аналізу використано метод ПЛР-ПДРФ. На основі отриманих даних встановлено специфіку генетичної структури дослідженої популяції за розподілом частот алелів та генотипів. За геном тиреоглобуліну кількісну перевагу мали тварини з гомозиготним генотипом СС, що зумовило високу концентрацію алеля С (0,775). За геном калпаїну у дослідженій групі тварин виявлено високу частоту бажаного алеля G (0,539). За результатами проведеного аналізу визначено перспективність дослідженої групи тварин поліської м'ясної породи для встановлення асоціативного зв'язку різних алельних варіантів генів тиреоглобуліну і калпаїну з параметрами якісних характеристик кінцевої продукції – мармуровістю і ніжністю яловичини.

Ключові слова: локус, генотип, калпаїн, тиреоглобулін, поліморфізм, гетерозиготність

ANALYSIS OF THE GENETIC STRUCTURE OF THE POLISH BEEF BREED BY MOLECULAR MARKERS OF MEAT QUALITY INDICATORS PRODUCTIVITY

Y. O. Lemeshko, P. P. Dzhus

Institute of Animal Breeding and Genetics nd. a. M. V. Zubets of NAAS (Chubynske, Ukraine)

The results of determining the genotypes of Polish beef breed animals based on polymorphism of the thyroglobulin (TG 5) and calpain (CAPN1 530) genes are given. The PCR-PDRF method was used for the analysis. Based on the obtained data, the specifics of the genetic structure of the studied population were established based on the distribution of frequencies of alleles and genotypes. For the thyroglobulin gene, animals with the homozygous SS genotype had a quantitative advantage, which led to a high concentration of the C allele (0.775). For the calpain gene, a high frequency of the desired G allele was found in the studied group of animals (0.539). Based on the results of the analysis, the prospects of the researched group of animals of the Polish meat breed were determined for establishing an associative relationship of various allelic variants of the thyroglobulin and calpain genes with the parameters of the quality characteristics of the final product – marbling and tenderness of meat.

Keywords: locus, genotype, calpain, thyroglobulin, polymorphism, heterozygosity

Вступ. Виробництво племінних генетичних ресурсів великої рогатої худоби м'ясних порід в Україні визначає потенційний резерв внутрішнього ринку щодо нарощування поголів'я та формує базовий експортний потенціал держави. Сучасний світовий досвід реалізації селекційних процесів у м'ясному скотарстві підтверджує максимальну результативність молекулярно-генетичних досліджень структури популяцій великої рогатої худоби за генами асоційованими з якісними і кількісними параметрами м'ясної продуктивності (Frank et al, 2016; Purfield et al, 2019). Використання молекулярних маркерів дозволяє аналізувати стан і

тенденції розвитку генетичної структури окремого стада та популяції в цілому, контролювати рівень генетичної мінливості та вести цілеспрямовану селекцію для підвищення обсягів і скорочення часу одержання певного виду тваринницької продукції (Shin et al, 2014; Raza et al, 2019).

До панелі локусів кількісних ознак, за якими проводять оцінку м'ясної худоби, включено гени тиреоглобуліну і калпаїну, експресія яких зумовлює фенотиповий прояв якісних характеристик м'яса після забою тварин (Mateescu et al, 2017; Sun et al, 2018; Xin et al, 2011; Shin et al, 2007; Varendse et al, 2004; Zalewska et al, 2021). Ген TG кодує глікопротеїновий гормон, який синтезується в фолікулярних клітинах щитовидної залози, є регулятором розвитку жирових клітин та внутрішньом'язового відкладення жиру. Різноманітні дослідження показали, що точкові мутації, розташовані в 5' промоторній ділянці гена TG пов'язані з вмістом жиру в найдовшому м'язі спини (Anton et al, 2008; Anton et al, 2011) і мрамуровістю м'яса тварин (Gan et al, 2008; Dobrianska et al, 2012). Ген калпаїну здійснює регулюючий вплив на біохімічні процеси в м'язових волокнах після забою тварин. За дослідженнями Page B. зі співавторами виявлено різницю за параметрами ніжності м'яса великої рогатої худоби після 14-добового дозрівання. У тварин з мутацією в 530 позиції гена калпаїну, яка визначає заміну в білку амінокислоти валін на ізолейцин, вищі значення якісних характеристик ніжності м'яса (Page et al, 2002).

В Україні за поліморфізмом локусів TG5 та CAPN1 530 досліджено популяції 6-ти порід великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності (Dobrianska, 2013). Поліська м'ясна порода не входить до переліку оціненого поголів'я, тому, з огляду обмеженого генофонду цієї породи, доцільно дослідити племінних тварин за генами кількісних ознак.

Метою даної роботи було провести генотипування маточного поголів'я великої рогатої худоби поліської м'ясної породи та визначити частоти алелів і генотипів за генами тиреоглобулін TG5 і CAPN1 530 калпаїну.

Матеріали і методи досліджень. Для проведення молекулярно-генетичного аналізу використовували стабілізовану ЕДТА периферійну кров корів поліської м'ясної породи племінного репродуктора СФГ «Верес» Краматорського району Донецької області. Загальна кількість досліджених тварин – 51 голова. Дослідження проводилися з використанням методу ПЛР-ПДРФ. Послідовність підібраних праймерів для локусу тиреоглобуліну (TG5) була наступною: F: 5'-GGGGATGACTACGAGTATGACTG-3'; R: 5'-GAAAATCTTGTGGAGGCTGT -3'. Для локусу калпаїну (CAPN1 530): F:5'-TCTTCTCAGAGAAGAGCGCAG-3'; R: 5'-CTGCGCCATTACTATCGATC-3'. Склад реакційної суміші: 67 мМ Tris-HCl (рН 8,8), 17 мМ (NH₄)₂SO₄; 0,01% Tween-20; 0,2 мМ dNTP, 1 од. Таг-полімерази, 50 нг геномної ДНК, 2,0 мМ MgCl₂; по 0,4 мкМ кожного з праймерів. Температурний режим ампліфікації та оптимальний склад реакційної суміші були підібрані окремо для кожної пари праймерів. Рестрикційний аналіз для визначення алельних варіантів досліджуваних генів проводили з використанням ендонуклеази PstI. Електрофорез проводили 2% агарозному гелі. Розміри одержаних продуктів виявляли за допомогою маркеру молекулярних мас GeneRuler TM 100 bp DNA Ladder. Результати обробляли методами варіаційної статистики із застосуванням стандартного пакету програм Microsoft Excel.

Результати досліджень. Різноманітні дослідження показали, що точкові мутації, розташовані в 5' промоторній ділянці гена TG пов'язані з вмістом жиру в найдовшому м'язі спини (Raza et al, 2019; Shin et al, 2007) і мрамуровістю м'яса тварин (Singh et al, 2014; Sun et al, 2018). Нами вперше проведено аналіз поліморфізму поліської м'ясної породи за цим геном. На рисунку 1 представлена електрофореограма продуктів рестрикції гену тиреоглобуліну.

Згідно таблиці 1 у групі досліджених тварин з найвищою частотою зустрічались носії гомозиготного генотипу CC – 0,608. Частота гетерозигот становила 0,333. Найнижчою була частота гомозиготного генотипу за бажаним алелем T – 0,059. Відповідно, переважаючою була частота алеля C – 0,775. Алель T характеризувався частотою 0,225.

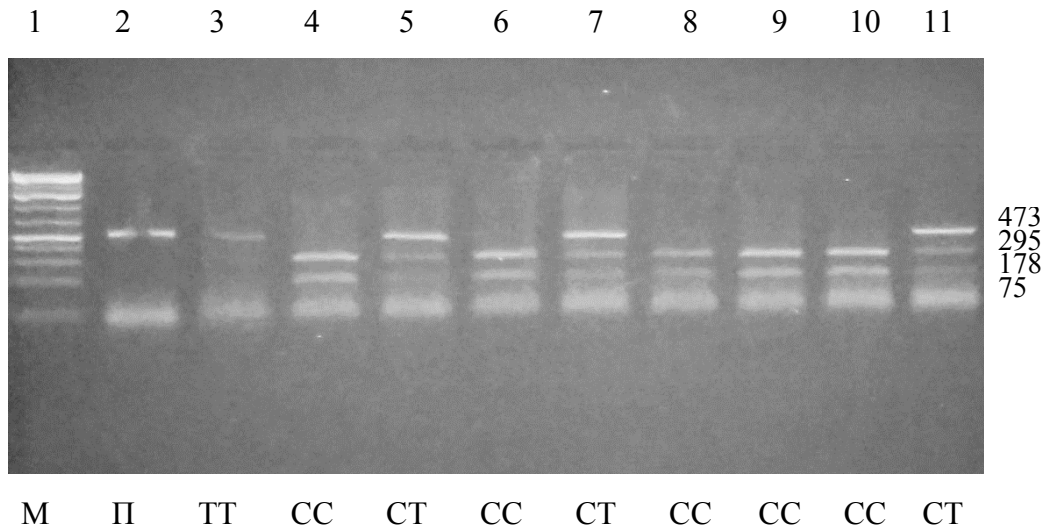


Рис. 1. Електрофореограма продуктів рестрикції ампліфікованих фрагментів гену тиреоглобуліну у великої рогатої худоби поліської м'ясної породи (3 – генотип ТТ; 4, 6, 8-10 – генотип СС; 5, 7, 11 – генотипи тварин СТ; 2 – продукт ампліфікації гена; 1 – маркер молекулярних мас)

1. Частота алелів та генотипів за геном тиреоглобуліну у великої рогатої худоби поліської м'ясної породи

n	Генотип	Частота	Алель		Фактична гетерозиготність, H_0	Очікувана гетерозиготність, H_E	χ^2	F_{is}
			С	Т				
51	СС	0,608	0,775	0,225	0,333	0,349	0,11	0,046
	СТ	0,333						
	ТТ	0,059						

Примітка: χ^2 – стандартні значення критерію Пірсона, F_{is} – індекс фіксації Райта

Теоретично очікувана гетерозиготність статистично невірогідно ($\chi^2 = 0,11$) перевищувала фактичну. Додатне значення індексу фіксації Райта свідчить про незначне зміщення генетичної рівноваги популяції в бік надлишку гомозигот за алелем С досліджуваного гена.

Для порівняння одержаних даних нами проаналізовано результати аналогічних досліджень популяцій худоби породи шароле. Так, значення розподілу частот алелів і генотипів за локусом TG5 наведені Марією Добрянською узгоджуються з нашою інформацією щодо генетичної структури поліської м'ясної. Автором також виявлено найбільшу частоту тварин з гомозиготним генотипом СС і статистично вірогідну перевагу алеля С (Dobrianska et al, 2012). Дослідженнями Qian-Fu Gan із співавторами встановлено переважання генотипу СС з частотою 0,92 у великої рогатої худоби породи шароле. Науковцями визначено також однакові значення (0,04) частот генотипів СТ і ТТ (Gan et al, 2008).

Таким чином, визначено високий рівень гомозиготності маточного поголів'я поліської м'ясної породи за алелем С гену тиреоглобуліну. Подібний розподіл частот генотипів локусу TG5 досліджуваного гена у худоби шароле доводить інтенсивне її використання при виведенні та подальшому відтворенні поліської м'ясної породи. Одержані індивідуальні результати генотипування є інформаційним базисом для спрямування селекційної роботи на відбір гетерозиготних і гомозиготних за алелем Т тварин, їх інтенсивне залучення у відтворний процес для підтримання оптимального рівня генетичної мінливості та підвищення концентрації бажаного алелю гена тиреоглобуліну у вітчизняній популяції.

На рисунку 2 наведено електрофореограму продуктів рестрикції гену калпаїну-1 у досліджених тварин.

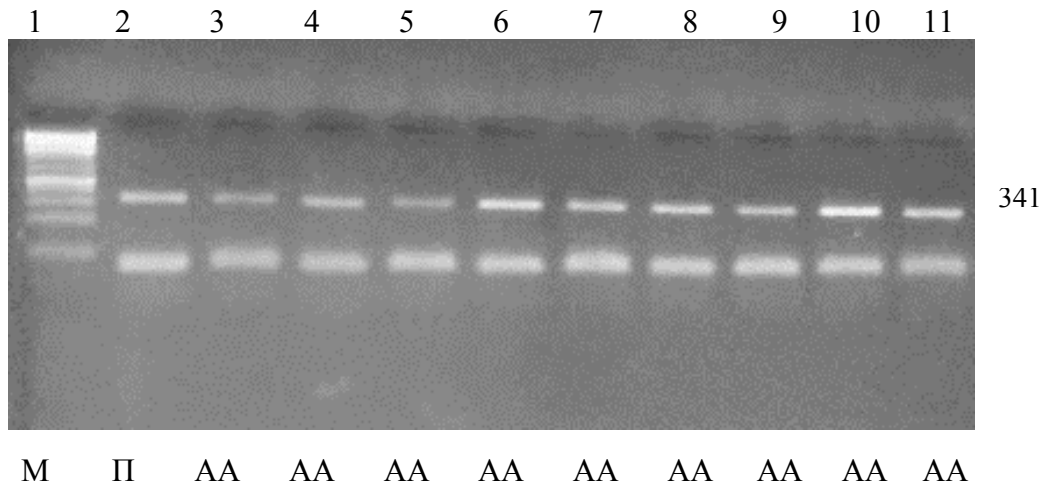


Рис. 2. Електрофореограма розділення продуктів рестрикції ампліфікованого фрагмента гену калпаїну у тварин поліської м'ясної породи (1 – маркер молекулярних мас; 2 – ПЛР – продукт; 4 – 11 – тварини з генотипом AA)

Згідно даних таблиці 2, у групі досліджених тварин за геном калпаїну переважали гомозиготи з генотипом GG. Їх частота становила 0,471, що достовірно вище ($p < 0,001$) від кількості гетерозиготних носіїв AG (0,137). Генотип AA зустрічався з частотою 0,392. Варто зауважити, що у групі досліджених тварин переважали носії гомозиготних генотипів.

2. Частота алелів та генотипів за геном калпаїну у великій рогатій худобі поліської м'ясної породи

n	Генотип	Частота	Алель		Фактична гетерозиготність, H_0	Очікувана гетерозиготність, H_E	χ^2	F_{is}
			G	A				
51	GG	0,471	0,539	0,461	0,137	0,497	26,72	0,724
	AG	0,137						
	AA	0,392						

Примітка: χ^2 – стандартні значення критерію Пірсона, F_{is} – індекс фіксації Райта

Частота алельного варіанту G (0,539) переважала аналогічний показник алелю A (0,461). Очікувана гетерозиготність дослідженої популяції статистично вірогідно ($\chi^2 = 26,72$) перевищувала фактичну. Індекс фіксації Райта становив 0,724. Тобто, у дослідженій групі тварин відмічено високу концентрацію бажаного алеля G, що визначає значний генетичний резерв для фенотипової реалізації показників ніжності м'яса після забою тварин. Порівнюючи дані з результатами аналогічних досліджень вітчизняного поголів'я породи шароле за локусом CAPN 1 530 авторами також виявлено переважання гомозигот за бажаним алелем G (Dobrianska, 2014). Таким чином, варто відмітити позитивні характеристики генетичної структури мікропопуляції великої рогатої худоби поліської м'ясної породи за локусом калпаїну, що дає підстави високо оцінювати якість одержаної від них в майбутньому яловичини за показниками ніжності.

Висновки. Результати індивідуального генотипування маточного поголів'я поліської м'ясної породи дозволяють розширити враховані фактори оцінювання тварин. Одержані дані характеризують особливості розподілу алелів генів тиреоглобуліну та калпаїну в досліджуваній групі. За обома генами відмічено переважання теоретично очікуваної гетерозиготності над фактичною. Це визначає необхідність систематичного контролю за розвитком генетичної структури поліської м'ясної породи для збереження оптимального рівня мінливості в популяції.

REFERENCES

- Anton, I., Kovács, K., Fésüs, L., Várhegyi, J., Lehel, L., Hajda, Z., Polgár, J. P., Szabó, F., & Zsolnai, A. (2008). Effect of DGAT1 and TG gene polymorphisms on intramuscular fat and on milk production traits in different cattle breeds in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 56 (2), 181–186. <https://doi.org/10.1556/avet.56.2008.2.5>
- Anton, I., Kovács, K., Holló, G., Farkas, V., Lehel, L., Hajda, Z., & Zsolnai, A. (2011). Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. *Livestock Science*, 135 (2–3), 300–303. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.07.012>.
- Barendse, W., Bunch, R., Thomas, M., Armitage, S., Baud, S., & Donaldson, N. (2004). The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44 (7), 669–674. <https://doi.org/10.1071/EA02156>
- Frank, D., Ball, A., Hughes, J., Krishnamurthy, R., Piyasiri, U., Stark, J., Watkins, P., & Warner, R. (2016). Sensory and flavor chemistry characteristics of Australian beef: Influence of intramuscular fat, feed, and breed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (21), 4299–4311. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00160>.
- Gan, Q. F., Zhang, L. P., Li, J. Y., Hou, G. Y., Li, D. H., Gao, X., Ren, H. Y., Chen, J. B., & Xu, S. Z. (2008). Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Journal of Applied Genetics*, 49 (3), 251–255. <https://doi.org/10.1007/BF03195621>.
- Dobrianska, M. L., & Kopylov, K. V. (2012). Polimorfizm gena tyreoglobulinu (TG) v populatsiiakh velykoi rohatoi khudoby m'iasnoho napriamku produktyvnosti [Polymorphism of the gene of thyroglobulin (TG) in populations of cattle of the beef direction of productivity]. *Rozvedennia i henetyka tvaryn – Animal breeding and genetics*. Kyiv, 46, 273–274 [In Ukrainian].
- Dobrianska, M. L. (2013). Henetychna struktura m'iasnykh porid velykoi rohatoi khudoby za riznyimi tipami DNK-markeriv [Genetic structure of beef breeds of cattle according to different types of DNA markers] (Extended abstract of candidate's thesis). Instytut rozvedennia i henetyky tvaryn NAAN, Chubynske. [In Ukrainian].
- Dobrianska, M. L. (2014). Henetychna struktura m'iasnykh porid velykoi rohatoi khudoby za riznyimi tipami DNK-markeriv [Genetic structure of beef breeds of cattle according to different types of DNA markers] *Rozvedennia i henetyka tvaryn – Animal breeding and genetics*. Kyiv, 48, 183–188 [In Ukrainian].
- Mateescu, R. G., Garrick, D. J., & Reecy, J. M. (2017). Network analysis reveals putative genes affecting meat quality in Angus cattle. *Frontiers in Genetics*, 8, 171. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00171>.
- Page, B. T., Casas, E., Heaton, M. P., Cullen, N. G., Hyndman, D. L., Morris, C. A., Crawford, A. M., Wheeler, T. L., Koohmaraie, M., Keele, J. W., & Smith, T. P. L. (2002). Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *Journal of Animal Science*, 80 (12), 3077–3085. <https://doi.org/10.2527/2002.80123077x>.
- Purfield, D. C., Evans, R. D., & Berry, D. P. (2019). Reaffirmation of known major genes and the identification of novel candidate genes associated with carcass-related metrics based on whole genome sequence within a large multi-breed cattle population. *BMC Genomics*, 20, 720. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6071-9>.
- Raza, S. H. A., Khan, R., Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Taha, A., Ohran, H., Mei, C., Schreurs, N. M., & Zan, L. (2019). Advances of molecular markers and their application for body variables and carcass traits in Qinchuan cattle. *Genes*, 10 (9), 717. <https://doi.org/10.3390/genes10090717>.
- Shin, S. C., & Chung, E. R. (2007). Association of SNP marker in the Thyroglobulin gene with carcass and meat quality traits in Korean cattle. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 20, 172–177. <https://doi.org/10.5713/ajas.2007.172>.

- Singh, U., Deb, R., Alyethodi, R. R., Alex, R., Kumar, S., Chakraborty, S., Dhama, K., & Sharma, A. (2014). Molecular markers and their applications in cattle genetic research: A review. *Biomarkers and Genomic Medicine*, 6 (2), 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.bgm.2014.03.001>.
- Sun, X., Wu, X., Fan, Y., Mao, Y., Ji, D., Huang, B., & Yang, Z. (2018). Effects of polymorphisms in CAPN1 and CAST genes on meat tenderness of Chinese Simmental cattle. *Archives Animal Breeding*, 61 (4), 433–439. <https://doi.org/10.5194/aab-61-433-2018>.
- Xin, J., Li-chun, Z., Zhao-zhi, L., Xiao-hui, L., Hai-guo, J., & Chang-guo, Y. (2011). Association of polymorphisms in the calpain 1 gene with meat quality traits in Yanbian Yellow cattle of China. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 24 (1), 9–16. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.90407>.
- Zalewska, M., Puppel, K., & Sakowski, T. (2021). Associations between gene polymorphisms and selected meat traits in cattle – A review. *Animal Bioscience*, 34 (9), 1425–1438. <https://doi.org/10.5713/ab.20.067>.

Одержано редколегією 05.05.24 р.

Прийнято до друку 25.06.24 р.