

ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА М'ЯСНИХ ПОРІД ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЗА РІЗНИМИ ТИПАМИ ДНК-МАРКЕРІВ

М. Л. ДОБРЯНСЬКА

Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)

mahadobra@gmail.com

Представлено результати проведеного дослідження з виявлення особливостей міжпородного поліморфізму по локусам кількісних ознак (QTL). Був здійснений молекулярно-генетичний аналіз на групах тварин шести порід великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності – абердин-ангус, шароле, герефорд, симентальська, південна м'ясна, сіра українська. Досліджені локуси кількісних ознак пов'язані з показниками м'ясної продуктивності, а саме з ніжністю (CAPN1 530) і мрамуровістю (TG5) м'яса. На основі отриманих даних була проведена порівняльна оцінка досліджених популяцій, а також встановлено специфіку генетичної структури за розподілом частот алелів та генотипів.

Ключові слова: TG, CAPN1 530, QTL, ДНК-маркери, велика рогата худоба, м'ясна худоба

MEAT CATTLE GENETIC STRUCTURE BY DIFFERENT TYPES OF DNA MARKERS

M. L. Dobryanska

¹Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS (Chubynske, Ukraine)

The results of the study to identify the characteristics of interbreed polymorphism by DNA markers – quantitative traits loci (QTL) were presented. Molecular genetic analysis was conducted on populations of six species of meat cattle – Aberdeen-Angus, Charolais, Hereford, Symental, Southern Meat Breed, Gray Ukrainian Breed. QTL markers were associated with indicators of the meat productivity, namely tenderness (CAPN1 530) and marbling (TG). Based on the data obtained we performed a comparative evaluation of the examined populations, as well as established specific genetic structure of the allele frequency distribution and genotypes.

Key words: TG, CAPN1 530, QTL, DNA markers, beef cattle

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МЯСНЫХ ПОРОД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО РАЗНЫМ ТИПАМ ДНК-МАРКЕРОВ

М. Л. Добрянская

Інститут розведення і генетики животнох НААН (Чубинське, Україна)

Представлены результаты проведенного исследования по выявлению особенностей межпородного полиморфизма по локусам количественных признаков (QTL). Осуществлен молекулярно-генетический анализ на группах животных шести пород крупного рогатого скота мясного направления продуктивности – абердин-ангус, шароле, герефорд, симментальская, южная мясная, серая украинская. Исследуемые локусы количественных признаков связаны с показателями мясной продуктивности, а именно с нежностью (CAPN1 530) и мраморностью (TG5) мяса. На основе полученных данных была проведена сравнительная оценка исследованных популяций, а также определена специфика генетической структуры по распределению частот аллелей и генотипов.

Ключевые слова: TG, CAPN1 530, QTL, ДНК-маркеры, крупный рогатый скот, мясной скот

Вступ. Розвиток м'ясного скотарства в Україні потребує всебічного дослідження особливостей генетичної структури порід, що складають його основу. Молекулярно-генетичний аналіз є одним з методів оцінки генетичного потенціалу тварин за ознаками продуктивності і резерву генетичної мінливості популяцій. Завдяки використанню молекулярно-генетичних методів є можливість провести прижиттєву оцінку тварин за якісними показниками м'ясної продуктивності [1–2].

До показників м'ясної продуктивності великої рогатої худоби, які широко використовуються в світі, належать ніжність і мрамуровість. В їх формуванні приймають участь гени – тиреоглобулін (локус TG5), алельні варіанти якого пов'язані з різним ступенем накопичення внутрішньом'язового жиру [3, 4] і калпаїн (локус CAPN1 530), алельні варіанти якого асоційовані із поперечною пружністю м'язового волокна [5–9].

Оскільки в нашій країні генетична структура популяцій великої рогатої худоби м'ясного напрямку не досліджена за такими ДНК-маркерами, нами були проведені дослідження щодо визначення внутрішньо- і міжпородних особливостей великої рогатої худоби за поліморфізмом генів кількісних ознак.

Матеріали і методи досліджень. Для проведення молекулярно-генетичного аналізу використовували біоматеріал від тварин порід абердин-ангус, герефорд, шароле, симентальська, південна м'ясна і сіра українська. Загальна кількість досліджених тварин склала 234 гол. Дослідження проводилися з використанням методу ПЛР-ПДРФ та ISSR-ПЛР.

Для локусу тиреоглобуліну (TG5) послідовність підібраних праймерів і рестриктаза були наступні: F: 5'-GGGGATGACTACGAGTATGACTG-3'; R: 5'-GAAAATCTTGTGGAGGCTGT -3', *PsuI*. Для локусу калпаїну (CAPN1 530): F:5'-TCTTCTCAGAGAAGAGCGCAG -3'; R: 5'-CTGCGCCATTACTATCGATC -3', *PsyI*. Склад реакційної суміші: 67 мМ Tris-HCl (pH 8,8), 17 мМ (NH₄)₂SO₄; 0,01% Tween-20; 0,2 мМ dNTP, 1 од. Tag-полімерази, 50 нг геномної ДНК, 2,0 мМ MgCl₂; по 0,4 мкМ кожного з праймерів. Температурний режим ампліфікації та оптимальний склад реакційної суміші були підібрані окремо для кожної пари праймерів.

Результати досліджень. За результатами даних, отриманих в ході молекулярно-генетичного аналізу, було визначено особливості генетичної структури досліджених порід за локусом (TG5) гену тиреоглобуліну (рис. 1). Виявлено специфіку розподілу алелів і генотипів в породах, індивідуальні та породоспецифічні характеристики тварин.

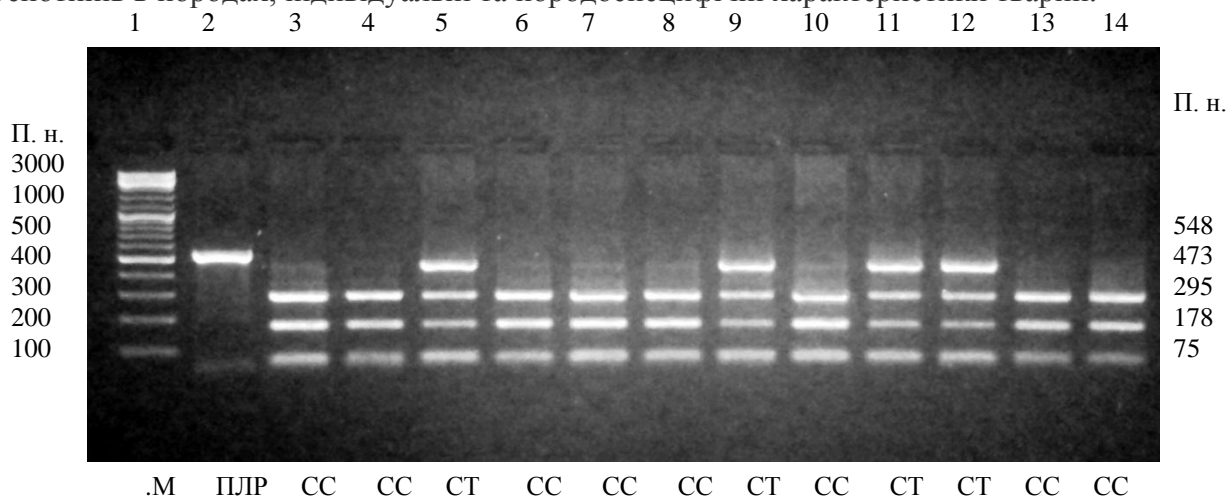


Рис. 1. Електрофореграма продуктів рестрикції ампліфікованих фрагментів локусу TG у тварин породи герефорд: 1- маркер молекулярної маси; 2 - ПЛР – продукт; 3, 4, 6, 7, 8, 10, 13, 14 - тварини з генотипом SS; 5, 9, 11, 12 – тварини з генотипом ST

У цілому відзначимо, що частота алеля TG5-T, бажаного для селекції великої рогатої худоби з метою покращення якісних показників м'яса, суттєво залежала від породної належності досліджених тварин (табл. 1).

1. Частота алелів і генотипів за геном тиреоглобуліну у тварин м'ясних порід великої рогатої худоби

Порода	Частоти генотипів			Частоти алелів	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
Абердин-ангус	0,57±0,108 ^{a*}	0,43±0,108	-	0,76±0,09	0,24±0,093
Симентальська	0,30±0,084 ^{b***}	0,60±0,089	0,10±0,055	0,60±0,09	0,40±0,089
Шароле	0,70±0,080 ^{d***}	0,27±0,077	0,03±0,030	0,83±0,065	0,17±0,07
Геррефорд	0,77±0,076 ^{c***}	0,23±0,076	-	0,89±0,056	0,11±0,06
Південна м'ясна	0,51±0,084	0,46±0,084	0,03±0,029	0,74±0,074	0,26±0,07
Сіра українська	0,31±0,050 ^{c***}	0,57±0,054	0,12±0,035	0,59±0,054	0,41±0,05

Примітка. різниця: ^a – між абердин-ангусами і сірою українською; ^b – між сименталами і шароле; ^c – між сименталами і геррефордами; ^d – між шароле і сірою українською; ^e – між геррефордами і сірою українською. P – рівень значущості: * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001; n – кількість тварин

Схожий розподіл алелів і генотипів за TG5 локусом спостерігався для тварин порід шароле і геррефорд, південної м'ясної і абердин-ангус, симентальської та сірої української.

Для тварин породи геррефорд відмічено найвищу частоту гомозигот СС – 0,77, що статистично значуще переважає значення цього показника для вибірок сірої української та симентальської порід (p<0,001).

Симентальська порода характеризувалась високою частотою гетерозиготних тварин СТ – 0,60, на відміну від геррефордів – 0,23 та шароле – 0,27 (p<0,01). Також підвищена частота гетерозиготних генотипів була характерна для тварин південної м'ясної породи і склала 0,46. Найвища частота гомозиготних особин ТТ була характерною для сірої української породи великої рогатої худоби і становила 0,12, а частота селекційно бажаного алеля Т – 0,41. Отже, за результатами популяційно-генетичного аналізу встановлено, що кращим генофондовим резервом за частотою селекційно бажаного алеля TG5-T, що зумовлює прояв ознаки мармуровості м'яса, є симентальська та сіра українська породи.

Згідно з діаграмою (рис. 2) в популяції тварин порід абердин-ангус, симентальська, південна м'ясна, сіра українська та геррефорд відмічається зміщення генетичної рівноваги в бік надлишку гетерозигот, що свідчить про селективну перевагу тварин гетерозиготного генотипу та особливостей індивідуального добору тварин у стадах.

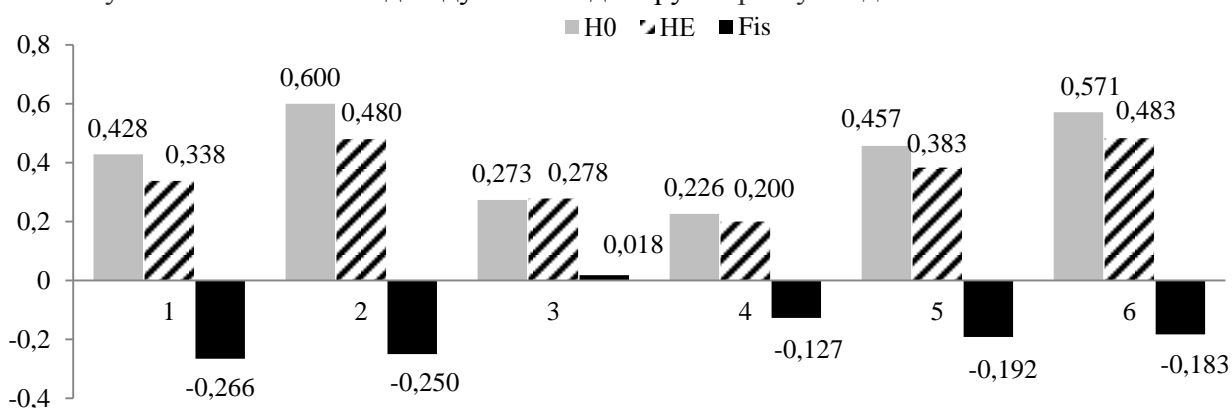


Рис. 2. Показники гетерозиготності та індекс фіксації Райта в різних породах великої рогатої худоби за локусом тиреоглобуліну (1 – абердин-ангус; 2 – симентальська; 3 – шароле; 4 – геррефорд; 5 – південна м'ясна; 6 – сіра українська)

У своїх дослідженнях ми використовували статистичні розрахунки (F-статистика) рівня гетерозиготності мікропопуляцій різних порід великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності для оцінки їх генетичного резерву за бажаним алелем (Т) тиреоглобуліну.

За результатами молекулярно-генетичного аналізу різних порід великої рогатої худоби за локусом CAPN1 530 гену калпаїну (рис.3) встановлено характерні особливості дослідженої вибірки тварин сірої української породи, що характеризувалися високою частотою носіїв бажаного алелю G – 1,00, що суттєво відрізнялось від значення цього показника у порід симентальська та південна м'ясна ($p < 0,001$).

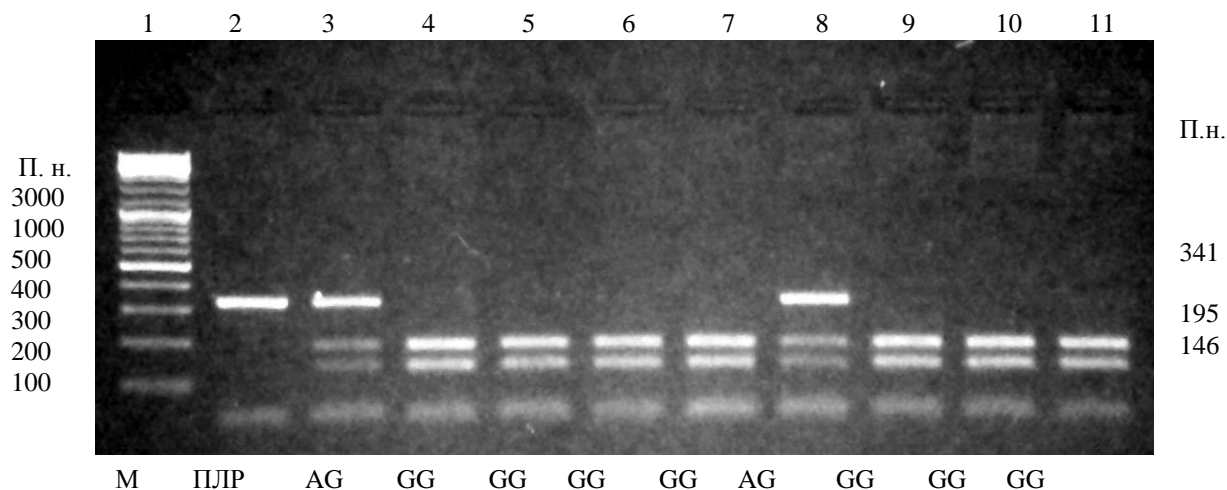


Рис. 3. Електрофореграма розділення продуктів рестрикції ампліфікованих фрагментів локусу калпаїну у абердин-ангусів: 1 – маркер молекулярних мас; 2 – ПЛР – продукт; 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11 – тварини з генотипом GG; 3, 8 – тварини з генотипом AG

У породах шароле, абердин-ангус, герефорд також спостерігалася значна кількість тварин з генотипом GG (табл. 2). Найнижча частота генотипу GG була характерна для тварин симентальської породи (0,07), у яких відмічено статистично значуще вищу ($p < 0,001$) частоту алеля А порівняно з аналогічними показниками інших порід. У тварин порід абердин-ангус, шароле, герефорд і сіра українська спільною характеристикою є відсутність гомозигот AA за геном калпаїну. Найвищу частоту гетерозиготних особин спостерігали у симентальській породі – 0,56, що статистично значуще вище, ніж у порід герефорд ($p < 0,01$) та абердин-ангус ($p < 0,05$).

2. Частота алелів і генотипів за локусом CAPN1 530 гену калпаїну у тварин м'ясних порід великої рогатої худоби

Порода	Частоти генотипів			Частоти алелів	
	GG	GA	AA	G	A
Абердин-ангус	0,76±0,093 ^{a***}	0,24±0,093 ^{a*}	-	0,88±0,071	0,12±0,071
Симентал	0,07±0,047	0,56±0,091 ^{c**}	0,37±0,088	0,35±0,087 ^{e***}	0,65±0,087 ^{a***}
Шароле	0,79±0,071	0,21±0,071	-	0,89±0,054	0,11±0,054
Герефорд	0,68±0,084 ^{c***}	0,32±0,084	-	0,84±0,066 ^{c***}	0,16±0,066 ^{c***}
Південна м'ясна	0,60±0,083 ^{d***}	0,26±0,074	0,14±0,059 ^{d*}	0,73±0,075	0,27±0,075
Сіра українська	1,00 ^{e***}	-	-	1,00 ^{b*}	-

Примітка. різниця між тваринами порід: ^a – абердин-ангус і симентальська; ^b – абердин-ангус і сіра українська; ^c – симентал і герефорд; ^d – симентал і південна м'ясна; ^e – симентал і сіра українська. Р – рівень значущості: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$; n – кількість тварин

Відповідно до результатів генотипування було встановлено, що сіра українська порода має генетичні передумови щодо підвищення ніжності м'яса. Це є важливою особливістю цієї породи, яку неодноразово використовували під час виведення нових вітчизняних порід м'ясної худоби як материнську форму. Тварини симентальської породи, за нашими даними, істотно відрізнялися за генетичною структурою за даним локусом від інших порід, що підтверджується істотно вищою частотою алеля А – 0,65.

Згідно з отриманими результатами F-статистичного аналізу (рис. 4) очікувана гетерозиготність за гену калпаїну переважає фактичну тільки в породі південна м'ясна.

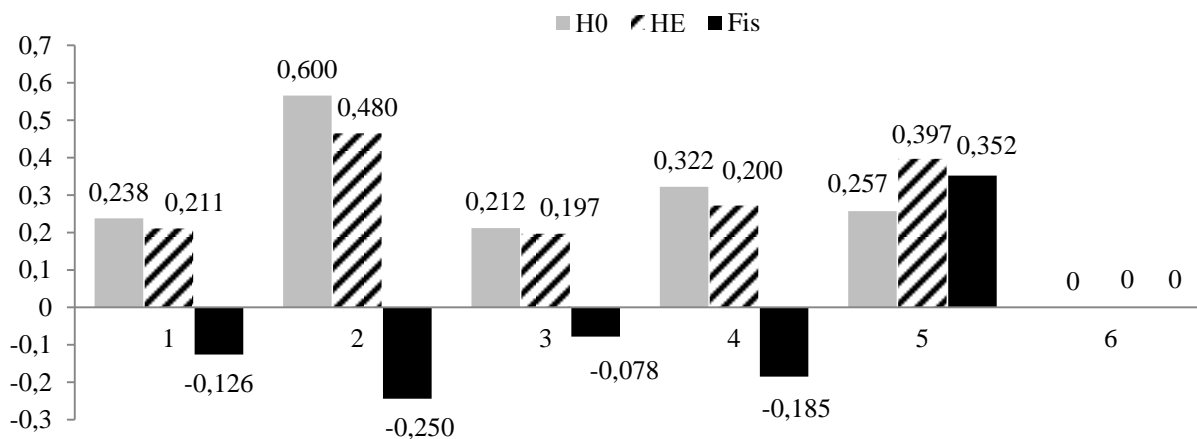


Рис. 4. Показники гетерозиготності та індекс фіксації Райта у різних порід великої рогатої худоби за локусом калпаїну тиреоглобуліну (1 – абердин-ангус; 2 – симентальська; 3 – шароле; 4 – герефорд; 5 – південна м'ясна; 6 – сіра українська).

Щодо тварин сірої української породи, проведення таких розрахунків виявилось неможливим, оскільки всі тварини були представниками одного генотипу. Зниження генетичного поліморфізму, з огляду на зниження загальної мінливості в популяції, можна розглядати як негативний фактор, але з селекційної точки зору, є опосередкованим свідченням консолідованості аборигенної породи, що є генетичним резервом алелів локусів кількісних ознак, а саме бажаного алеля G за локусом CAPN1 530 гена калпаїну, необхідного для селекційного покращення тварин м'ясного напрямку продуктивності.

Висновки. У роботі було встановлено міжпородні особливості генетичної структури порід великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності за поліморфізмами генів тиреоглобуліну (TG5) та калпаїну (CAPN1 530), що визначені як додаткові критерії оцінювання генетичної мінливості і добору бажаних генотипів у селекційній роботі у м'ясному скотарстві.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. ДНК-діагностика великої рогатої худоби в системі геномної селекції: метод. рек. / В. П. Буркат [та ін.]; Міністерство аграрної політики України, НААН, Інститут розведення і генетики тварин. – Чубинське, 2009. – 112 с.
2. Смарагдов М. Г. Методы молекулярных маркеров в селекции хозяйственно ценных признаков у крупного рогатого скота / М. Г. Смарагдов // Сельскохозяйственная биология. – 2005. – № 6. – С. 3–7.
3. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. / W. Barendse [et al.] // Aust. J. Exp. Agric. – 2004. – 44 (7) – P. 669–674.
4. Association of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle / G. Y. Hou [et al.] // Molecular biology report. – 2011. – Vol. 38 (7). – P. 705–708.

5. Association of polymorphisms in the calpain I, calpain II and growth hormone genes with tenderness in bovine *M. longissimus dorsi* / S. Costello [et al.] // *Meat. Science.* – 2007. – Vol. 75. – P. 551–557.

6. A new SNP in CAPN1 is associated with tenderness in cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent / S. N. White [et al.] // *J. Anim. Sci.* — 2005. — Vol. 83. — Pp. 2001–2006.

7. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires / B. T. Page [et al.] // *J. Anim. Sci.* – 2004. – Vol. 82. – P. 3474–3481.

8. A new single nucleotide polymorphisms in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos Taurus*, and crossbred descent / S. N White [et al.] // *J. Anim. Sci.* – 2005. – Vol. 83. – P. 2001–2008.

9. Production and processing studies on calpain-system gene markers for tenderness in Brahman cattle: 2. Objective meat quality / L. M.Cafe [et al.] // *J. Anim. Sci.* – 2010.– Vol. 88. – P. 3059–3069.

REFERENCES

1. Burkat, V. P., I. V. Huzyev, K. V. Kopylov, and K. V. Kopylova. 2009. *DNK-diahnostyka velykoyi rohatoyi khudoby v systemi henomnoyi selektsiyi: metod. rek. – DNA diagnostics cattle genomic breeding system: methodical recommendations.* Ministerstvo ahrarnoyi polityky Ukrayiny, Natsional'na akademiya ahrarnykh nauk, Instytut rozvedennya i henetyky tvaryn. Chubyns'ke, 112 (in Ukrainian).

2. Smaragdov M. G. 2005. Metody molekulyarnykh markerov v selektsii khozyaystvenno tsennykh priznakov u krupnogo rogatogo skota – Methods of molecular markers in breeding of agronomic traits in cattle. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya – Agricultural Biology.* 6:3–7 (in Russian).

3. Barendse, W., R. Bunch, M. Thomas, S. Armitage, S. Baud, and N. Donaldson. 2004. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle. *Aust. J. Exp. Agric.* 44:669–674.

4. Hou, G. Y., Z. R. Yuan, H. L. Zhou, L. P. Zhang, J. Y. Li, X. Gao, D. J. Wang, H. J. Gao, and S. Z. Xu. 2011. Association of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Molecular biology report.* 38:4705–4708.

5. Costello, S., E. O'Doherty, D. J. Troy, C. W. Ernst, K. S. Kim, P. Stapleton, T. Sweeney, and A. M. Mullen. 2007. Association of polymorphisms in the calpain I, calpain II and growth hormone genes with tenderness in bovine *M. longissimus dorsi*. *Meat. Science.* 75:551–557.

6. White, S. N., E. Casas, and T. L. Wheeler. 2005. A new SNP in CAPN1 is associated with tenderness in cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. *J. Anim. Sci.* 83:2001–2006.

7. Page, B. T., E. Casas, R. L. Quaas, R. M. Thallman, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Koohmaraie, S. N. White, G. L. Bennett, J. W. Keele, M. E. Dikeman, and T. P. L. Smith. 2004. Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *J. Anim. Sci.* 82:3474–3481.

8. White, S. N., E. Casas, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Koohmaraie, D. G. Riley, C. C. Chase Jr., D. D. Johnson, J. W. Keele, and T. P. L. Smith. 2005. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. *J. Anim. Sci.* 83:2001–2008.

9. Cafe, L. M., B. L. McIntyre, D. L. Robinson, G. H. Geesink, W. Barendse, D. W. Pethick, J. M. Thompson, and P. L. Greenwood. 2010. Production and processing studies on calpain-system gene markers for tenderness in Brahman cattle: 2. Objective meat quality. *J. Anim. Sci.* 88:3059–3069.