

УДК 636.1.082:575

Гузєєв Ю. В.¹, Мельник О. В.², Спиридонов В. Г.², Мельничук С. Д.²©

(E-mail: p-george@i.ua, oksa.pion@gmail.com)

¹ТОВ «Голосієво», с. Гоголів, Броварський р-н, Київська обл. 07452, Україна²Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ МІКРОПОПУЛЯЦІЇ СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЗА ДНК-МАРКЕРАМИ

Використання сучасних досягнень генетики, починаючи від контролю походження тварини до популяційної характеристики стада, у селекційній роботі в скотарстві значно покращує її ефективність. В країнах з розвинутим тваринництвом тестування тварин за мікросателітними локусами є обов'язковим для присвоєння тварині статусу племінної.

Метою наших досліджень був аналіз генетичних ресурсів великої рогатої худоби сірої української породи за мікросателітними локусами ДНК. Для досягнення цієї мети було використано 2 мікросателітних локуси – *BM2113* та *TGLA 227*. Матеріалом для досліджень була велика рогата худоба сірої української породи дочірніх стад ТОВ «Голосієво» (Броварського району Київської області) та КСП «Вороньків» (Бориспільського району Київської області). Генетичний аналіз худоби, яка належить КСП «Вороньків», було проведено в Українській лабораторії якості та безпеки продукції АПК, ТОВ «Голосієво» – в Державній науковій установі «Всеросійський науково-дослідний інститут тваринництва Російської академії сільськогосподарських наук».

У результаті проведених досліджень двох дочірніх стад великої рогатої худоби встановлено достатньо високий рівень поліморфізму, щоправда в КСП «Вороньків» за локусом *TGLA227* він був вищий. Усі досліджувані особини цього господарства за цим самим локусом виявилися гетерозиготами, про що свідчить значення фактичної гетерозиготності. Незначний дефіцит гетерозиготних генотипів (2,5%) зафіксовано в популяції ТОВ «Голосієво», у той час як в КСП «Вороньків», навпаки, є надлишок гетерозиготних генотипів на рівні 17,7%. У подальшому перспективним є проведення генетичного аналізу поголів'я сірої української породи великої рогатої худоби за більшою кількістю мікросателітних локусів.

Ключові слова: сіра українська порода, полімеразна ланцюгова реакція, мікросателіти, гетерозиготність

УДК 636.1.082:575

Ю. В. Гузєєв¹, О. В. Мельник², В. Г. Спиридонов², С. Д. Мельничук²¹ТОВ «Голосєєво», с. Гоголев, Броварской р-н, Киевская обл, 07452, Украина²Національний університет біоресурсов и природопользования Украины, ул. Героев Обороны, 15, г. Киев, 03041, Украина

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ МИКРОПОПУЛЯЦИИ СЕРОЙ УКРАИНСКОЙ ПОРОДЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО ДНК-МАРКЕРАМ

Использование современных достижений генетики, начиная от контроля происхождения животного до популяционной характеристики стада, в селекционной работе в скотоводстве значительно улучшает ее эффективность. В странах с развитым животноводством тестирование животных по микросателлитным локусам становится обязательным для присвоения животному статуса племенного.

Целью наших исследований был анализ генетических ресурсов крупного рогатого скота серой украинской породы по микросателлитным локусам ДНК. Для достижения этой цели использовали 2 микросателлитных локуса – BM2113 и TGLA227. Материалом для исследований был крупный рогатый скот серой украинской породы ООО «Голосеево» (Броварского района Киевской области) и КСП «Вороньков» (Бориспольского района Киевской области). Генетический анализ скота, принадлежащего КСП «Вороньков» был проведен в Украинской лаборатории качества и безопасности продукции АПК, ООО «Голосеево» – в Государственном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства Российской академии сельскохозяйственных наук».

В результате проведенных исследований двух популяций крупного рогатого скота установлен достаточно высокий уровень полиморфизма. Но, все же, в КСП «Вороньков» по локусу TGLA227 его значение было выше. Все исследуемые особи этого хозяйства по локусу TGLA227 оказались гетерозиготами, о чем свидетельствует значение фактической гетерозиготности. Незначительный дефицит гетерозиготных генотипов (2,5%) зафиксирован в популяции ООО «Голосеево», в то время как в КСП «Вороньков», наоборот, избыток гетерозиготных генотипов на уровне 17,7%. В дальнейшем перспективным является проведение генетического анализа поголовья серой украинской породы крупного рогатого скота за большим количеством микросателлитных локусов.

Ключевые слова: серая украинская порода, полимеразная цепная реакция, микросателлиты, гетерозиготность

UDC 636.1.082:575

Y. V. Huzeyev¹, O. V. Melnyk², V. G. Spyrydonov², S. D. Melnychuk²

¹LLC «Goloseevo», Gogolev, Brovary district, Kiev region, 07452, Ukraine

²National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Heroyiv Oborony st., 15, Kyiv, 03041, Ukraine

COMPARATIVE ANALYSIS OF GENETIC STRUCTURE OF A MICRO-POPULATION OF GRAY UKRAINIAN BREED CATTLE OF DNA MARKERS

The use of modern advances in genetics in cattle breeding from identification to parentage determination significantly improves its efficiency. The genotyping of animals by means of microsatellite loci is mandatory for recognition of animals as breeding.

The aim of our study was the analysis of genetic resources of cattle of Gray Ukrainian breed by means of microsatellite loci of DNA. To achieve this aim we used 2 microsatellite loci – BM2113 and TGLA 227. The material for the research was cattle of Gray Ukrainian breed from two households – «Golosiyevo» (Brovary district, Kyiv region) and «Voronkiv» (Boryspil district, Kyiv region). Genetic analysis of cattle belonging to «Voronkiv» was conducted in the Ukrainian Laboratory of Quality and Safety of Agricultural Products. Genetic analysis of cattle belonging to «Golosiyevo» was conducted in the State scientific institution «All-Russian Research Institute of Livestock of Russian Academy of Agricultural Sciences».

As a result of conducted studies of two herds of cattle sufficiently high level of polymorphism was identified. In cattle belonging «Voronkiv» the higher level of polymorphism with locus TGLA227 was observed. All studied animals of this household with locus TGLA227 were heterozygotes. It showed the value of observed heterozygosity. The deficiency of heterozygous genotypes (2,5%) was identified in the herd of «Golosiyevo». In cattle belonging «Voronkiv», on the contrary, there is an excess of heterozygous genotypes (17,7%). The future genetic analysis of cattle of Gray Ukrainian breed by means of more microsatellite loci is perspective.

Key words: gray ukrainian breed, polymerase chain reaction, microsatellite, heterozygosity

Вступ. Питання збереження генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин останнім часом набуває особливої актуальності. Основними причинами, які негативно впливають на скорочення генетичного різноманіття порід є безсистемні схрещування, відсутність селекційних програм і стратегій, природний відбір, інтенсифікація виробництва, широке використання продуктивніших порід, штучного осіменіння і трансплантація ембріонів. Локальні породи сільськогосподарських тварин, являються носіями цінного генетичного матеріалу і мають ряд переваг у порівнянні зі спеціалізованими породами: підвищена стійкість до захворювань, пристосованість до певних природно-кліматичних умов, міцність конституції тощо. До того ж локальні породи слугують матеріалом для подальшої успішної селекційної роботи.

Основною умовою у збереженні порід тварин є визначення методів і принципів виявлення їх генетичного різноманіття. Одним із найдоступніших методів його визначення є опис фенотипу тварин. Проте він має ряд недоліків, основним з яких є неврахування генетичних факторів, які впливають на розвиток ознаки. У разі відсутності достовірних фенотипових даних оцінка генетичного різноманіття породи ускладнюється. Вирішити цю проблему покликаний генетичний аналіз поліморфних ділянок ДНК за багатьма локусами, який дозволяє не лише провести оцінювання алельного складу популяції чи породи, але й отримати цінну інформацію щодо походження доместифікованих видів, їх міграції, походження.

Наразі для вивчення генетичної різноманітності в якості генетичних маркерів віддають перевагу послідовностям ДНК, поліморфізм яких обумовлений відмінностями в послідовності нуклеотидів різних алелів одного локусу. Одним із таких типів генетичних маркерів є мікросателіти, STR (Short Tandem Repeat), SSR (Simple Sequence Repeat), STMS (Sequence Tagged Microsatellite Site) — тандемні олігонуклеотидні повтори завдовжки 2–6 п. н. [3, 4], які мають кодомінантний характер успадкування та високий рівень поліморфізму. Використання сучасного лабораторного обладнання, такого як автоматичний ДНК секвенатор, із високим рівнем достовірності дозволяє визначити розміри алельних варіантів.

Серед ряду порід великої рогатої худоби в Україні особливого занепокоєння у зв'язку зі зниженням рівня генетичного різноманіття викликає сіра українська порода, яка згідно національної «Програми збереження та раціонального використання генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин України» належить до аборигенних зникаючих порід. Основними проблемами, пов'язаними зі збереженням генофонду представників цієї породи є звуження генетичного різноманіття і зменшення частот певних генів за рахунок спрямованої селекції за обмеженими ознаками протягом багатьох поколінь, наростання гомозиготності внаслідок розведення в замкнутій популяції, неможливість в малочисельних популяціях формувати генеалогічну структуру.

Метою наших досліджень був аналіз генетичних досліджень дочірніх господарств сірої української породи великої рогатої худоби Поливанівського кореня за двома мікросателітними локусами ДНК – BM2113 и TGLA227.

Матеріали і методи. Матеріалом для досліджень слугували тварини сірої української породи великої рогатої худоби Поливанівського кореня ТОВ «Голосіво» (Броварського району Київської області) (n=28) та КСП «Вороньків» (Бориспільського району Київської області) (n=23). Генетичний аналіз худоби, яка належить ТОВ «Голосіво», був проведений Державною науковою установою «Всеросійський науково-дослідний інститут тваринництва Російської академії

сільськогосподарських наук» з використанням електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації шляхом капілярного електрофорезу на приладі MegaBase 500.

Генетичний аналіз худоби, яка належить КСП «Вороньків», було проведено в науково-дослідному відділі молекулярно-діагностичних досліджень Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК. Периферійну кров відбирали у стерильні вакуумні пробірки з консервантом EDTA. Виділення геномної ДНК проводили, використовуючи набори «ДНК-сорб-В» («АмпліСенс», Росія) згідно інструкції виробника.

Для аналізу було обрано наступні мікросателітні локуси, які входять до стандартної панелі маркерів для генотипування великої рогатої худоби, визначеної ISAG (табл.1).

Таблиця 1

Характеристика мікросателітних локусів, використаних у дослідженні

Локус	Локалізація в геномі, № хромосоми	Розмір алелів, п.н.	Послідовність праймерів (5'-3')
BM2113	2	124–146	F: GCTGCCTTCTACCAAATACCC R: CTCCTGAGAGAAGCAACACC
TGLA 227	18	76–104	F: GGAATTCCAAATCTGTAAATTTGCT R: ACAGACAGAAACTCAATGAAAGCA

Полімеразну ланцюгову реакцію проводили за стандартних умов. Продукти ампліфікації денатурували формамідом (Sigma, США) та розділяли шляхом електрофорезу на автоматичному 4-капілярному генетичному аналізаторі ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Розміри алелів визначали, використовуючи розмірний стандарт Genescan-LIZ 500 (Applied Biosystems, США) та програмне забезпечення «Gene Mapper 3.7» (Applied Biosystem, США).

Під час проведення популяційно-генетичного аналізу обох стад визначали наступні показники: кількість алелів на локус (Na), ефективну кількість алелів (Ne), фактичну (Ho) і теоретично очікувану (He) гетерозиготність, індекс фіксації (F). Для статистичної обробки даних використовували програмне забезпечення, GENALEX 6 [6].

Результати й обговорення. Середня кількість алелів на локус, яка є показником інформативності аналізу та генетичного різноманіття, в обох популяціях за досліджуваними мікросателітними локусами виявилася майже однаковою (табл. 2).

Таблиця 2

Результати генетичного аналізу тварин сірої української породи в дочірніх господарствах ТОВ «Голосієво» та КСП «Вороньків»

Популяція	Локус	Показник				
		Na	Ne	Ho	He	F
ТОВ «Голосієво» (n=28)	BM2113	5	3,301	0,786	0,710	-0,127
	TGLA227	10	7,538	0,714	0,883	0,176
У середньому		7,5±2,5	5,420± 2,119	0,750± 0,036	0,796± 0,087	0,025± 0,152
КСП «Вороньків» (n=23)	BM2113	5	3,492	0,870	0,729	-0,219
	TGLA227	11	8,331	1,000	0,900	-0,136
У середньому		8,0±3,0	5,911± 2,419	0,935± 0,065	0,814± 0,085	-0,177± 0,041

Середня кількість ефективних алелів характеризує рівень поліморфізму в досліджуваних стадах. Максимальне значення цього показника спостерігали в КСП

«Вороньків» за локусом TGLA227, що свідчить про вищий рівень генетичної різноманітності в порівнянні зі стадом ТОВ «Голосієво».

Аналіз гетерозиготності дає змогу оцінити генетичну мінливість в популяції і виявити кількість гетерозиготних і гомозиготних особин. Щоправда, в популяціях, в яких використовують споріднене парування, зокрема чистопородне розведення в закритих популяціях, частота гомозигот може бути завищеною. У досліджуваних нами тварин максимальний показник фактичної гетерозиготності зафіксовано у стаді КСП «Вороньків» за локусом BM2113 – 1,0, тобто усі тварини за цим локусом виявилися гетерозиготами. Відповідно, у цьому стаді рівень фактичної гетерозиготності виявився вищим за аналогічний показник КСП «Вороньків». Мінімальний рівень фактичної гетерозиготності спостерігали в стаді ТОВ «Голосієво» за TGLA227 – 0,714. За всіма локусами, окрім TGLA227 у тварин, що належали ТОВ «Голосієво», спостерігали надлишок гетерозиготних генотипів, про що свідчить індекс фіксації. Даний показник відображує відхилення частот гетерозиготних генотипів, з якими вони зустрічаються в популяції, від теоретично очікуваної частоти гетерозигот згідно закону Харді-Вайнберга внаслідок випадкового парування. Тобто, індекс фіксації характеризує рівень інбридингу особин відносно популяції.

У результаті проведених досліджень максимальний надлишок гетерозиготних генотипів (21,9%) встановлено для стада сірої української худоби КСП «Вороньків». Лише для великої рогатої худоби, яка належать ТОВ «Голосієво», за локусом TGLA227 виявлено дефіцит гетерозиготних генотипів на рівні 2,5%.

Висновки. Проведений генетичний аналіз двох дочірніх стад сірої української породи Поливанівського кореня ТОВ «Голосієво» та КСП «Вороньків» за досліджуваними мікросателітними локусами показав їх високу інформативність. В обох досліджуваних групах тварин цей показник був вищим за локусом TGLA227. При аналізі індексу фіксації встановлено незначне скорочення генетичного різноманіття в ТОВ «Голосієво». У той самий час в КСП «Вороньків», навпаки, спостерігали надлишок гетерозиготних генотипів.

Перспективи подальших досліджень. Зважаючи на отримані дані та локальність і унікальність сірої української породи великої рогатої худоби, вважаємо за доцільне проведення подальшого її генетичного дослідження з метою запобігання скорочення генетичного різноманіття та втрати цінного генетичного матеріалу.

Література

1. Bagirov V. Geneticheskie resursy zhivotnovodstva [Genetic resources of livestock]. Zhivotnovodstvo Rossii – Livestock of Russia, 2008, no. 2, pp. 10–12 (In Russian).
2. Stolpovskij Ju. A. Populjacionno-geneticheskie osnovy sohraneniya genofondov domesticirovannyh vidov zhivotnyh [Population-genetic basis of gene conservation of domesticated species]. Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding, 2013, vol. 17, no. 4/2., pp. 900–915 (In Russian).
3. Litt M., Luty J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of dinucleotide repeats within cardiac muscle actin gene. The American Journal of Human Genetics, 1989, vol. 44, no. 3, pp. 397–401.
4. Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA markers. Nucleic Acids Research, 1989, vol. 17, no. 16, pp. 6463–6471.
5. Kozyr V. S., Popikova T. V. Mikroevolyutsiyni protsesy u henofondnomu stadi siroyi ukraiyins'koyi porody v umovakh doslidnoho hospodarstva «Polyvanivka» [Microevolution processes in the gene pool of herd of Gray Ukrainian cattle in experimental farm «Polyvanivka»].

Byuleten' Instytutu sil's'koho hospodarstva stepovoyi zony NAANU – Bulletin of Institute of Agriculture of Steppe zone of NAAS of Ukraine, 2011, no. 1, pp. 183–186 (In Ukrainian).

6. Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 2006, vol. 6, is. 1, pp. 288–295.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2015

УДК 636.087.7:612.1

Гуцол А. В., д. с.-г. н., професор, **Любасюк Н. В.**, аспірант ©
Вінницький національний аграрний університет

ВПЛИВ ЗГОДОВУВАННЯ БВМД ІНТЕРМІКС НА ПОКАЗНИКИ КРОВІ СВИНОМАТОК

Зразки крові досліджувались у свиноматок великої білої породи : холостих, супоросних (на 85 добу супоросності та за 2–3 доби перед опоросом), а також підсисних (на 5 добу після опоросу) у досліді по вивченню ефективності згодовування нової БВМД Інтермікс. Згідно з методикою, свиноматки дослідної групи холості та до 85 діб супоросності одержували в раціоні БВМД Інтермікс СС-7,5%, а в наступному і в підсисний період – БВМД Інтермікс ЛС-20%. Контрольна група у всі періоди споживала повнораціонний комбікорм.

Зазначено, що згодовування холостим свиноматкам БВМД Інтермікс СС-7,5% на фоні повнораціонного комбікорму не має вірогідного впливу на зміну гематологічних показників. На 85 добу супоросності відмічається тенденція до зменшення кількості лейкоцитів, лімфоцитів, фосфору та білка і збільшення еритроцитів, нейтрофілів, кальцію та заліза.

В кінці супоросності при згодовуванні БВМД Інтермікс ЛС-20% в крові збільшується вміст лімфоцитів, моноцитів, загального білка і зменшення еозинофілів та заліза. А у підсисних свиноматок зростає вміст базофілів, паличкоядерних нейтрофілів і заліза, а зменшується кількість лімфоцитів, загального білка і кальцію.

Ключові слова: свиноматки, БВМД Інтермікс, згодовування, кров, морфологічні показники, біохімічні показники, фізіологічна норма.

УДК 636.087.7: 612.1

Гуцол А. В., д. с.-х. н., професор, **Любасюк Н. В.**, аспірант
Вінницький національний аграрний університет

ВЛИЯНИЕ СКАРМЛИВАНИЯ БВМД ИНТЕРМИКС НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ СВИНОМАТОК

Образцы крови исследовались у свиноматок крупной белой породы: холостых, супоросных (на 85 сутки супоросности и за 2–3 суток перед опоросом), а также подсосных (на 5 сутки после опороса) в опыте по изучению эффективности скармливания новой БВМД Интермикс. Согласно методики, свиноматки опытной группы холостые и до 85 суток супоросности получали в рационе БВМД Интермикс СС-7,5%, а в последующем и в подсосный период – БВМД Интермикс ЛС-20%. Контрольная группа во все эти периоды потребляла полнорационный комбикорм.

Показано, что скармливание холостым свиноматкам БВМД Интермикс СС-7,5% на фоне полнорационного комбикорма не имеет достоверного влияния на изменения гематологических показателей. На 85 сутки супоросности отмечается тенденция к уменьшению количества лейкоцитов, лимфоцитов, фосфора и белка, а также увеличение эритроцитов, нейтрофилов, кальция и железа. В конце супоросности при скармливании БВМД Интермикс ЛС-20% в крови увеличивается