

УДК 575:636.082

ДУБІН О.В., канд. с.-г. наук

ДИМАНЬ Т.М., д-р с.-г. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА СТАДА УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ СТОВ «АГРОСВІТ» ЗА ПОЛІМОРФІЗМОМ QTL-ГЕНІВ

Проведено аналіз генетичної структури корів української чорно-рябої молочної породи СТОВ «Агросвіт» за поліморфізмом п'яти QTL-генів, асоційованих з молочною продуктивністю. На основі розподілу алельних частот визначено основні показники генетичної мінливості дослідженої популяції худоби: ефективне число алелів, індекс гетерогенності Шеннона та індекс фіксації Райта. Встановлено низьку частоту господарсько цінних алелів за генами k-казеїну та гормону росту, що свідчить про недостатній продуктивний потенціал та необхідність удосконалення селекційної роботи у стаді.

Ключові слова: генетична структура, k-казеїн, β-лактоглобулін, гормон росту, гіпофіз-специфічний фактор транскрипції, пролактин.

Постановка проблеми. Ефективність селекції можна значно підвищити шляхом використання нових молекулярних методів оцінювання ознак продуктивності сільськогосподарських тварин, що базуються на аналізі спадкової інформації. З розвитком молекулярної генетики стає можливим ідентифікація варіантів генів, які належать до так званих локусів кількісних ознак QTL (Quantitative Trait Loci's). Ідентифікація генів, асоційованих з господарсько корисними ознаками, на рівні порід, стад, споріднених груп тварин дає змогу виявляти особливості племінного матеріалу, оцінювати різноманітність генофонду популяцій, прогнозувати зміни, пов'язані з селекційними чинниками, виявляти потенційно високопродуктивних тварин у ранньому віці і, насамкінець, отримувати прибутки за рахунок скорочення генераційного інтервалу, застосування маркерної селекції тощо.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Для низки порід великої рогатої худоби як вітчизняної, так і зарубіжної селекції, сьогодні проведено аналіз генетичної структури за QTL-генами. Найчастіше проводять ідентифікацію генотипів української худоби за генами k-казеїну та β-лактоглобуліну, які кодують білки молока й регулюють його кількість, масову частку жиру і білка [1]. Меншою мірою досліджено генетичну структуру вітчизняних стад за генами пролактину (PRL), гормону росту (GH) та гіпофіз-специфічної транскрипції (Pit-I) [2]. Перші два задіяні в процесах лактогенезу та експресії генів молока, Pit I – регуляції експресії генів гормону росту і пролактину.

Метою нашого дослідження був комплексний аналіз генетичної структури групи корів української чорно-рябої молочної породи СТОВ «Агросвіт» за генами k-казеїну, β-лактоглобуліну, Pit-I, гормону росту та пролактину і визначення її продуктивного потенціалу.

Матеріал і методика досліджень. Матеріалом для досліджень слугувала переферійна кров корів української чорно-рябої молочної породи великої рогатої худоби (СТОВ «Агросвіт» Миронівського р-ну Київської обл., n=24). Проби крові великої рогатої худоби відбирали з хвостової вени одноразовим шприцом об'ємом 5–10 см³ з подальшим консервуванням 3%-ним розчином ЕДТА.

Виділення геномної ДНК проводили методом сорбування на силіцій оксиді [4]. Ампліфікацію ділянок досліджених генів та наступну рестрикцію продуктів ПЛР проводили методом ПЛР-ПДРФ (полімеразна ланцюгова реакція – аналіз поліморфізму рестрикційних фрагментів) [3].

Електрофоретичний аналіз продуктів рестрикції проводили у 2–4 %-ному агарозному гелі за використання 1×TBE-буфера. Візуалізацію ДНК-бендів проводили за допомогою бромистого етидію (0,5 мкг/см³). Генотипи досліджених тварин визначали за молекулярним розміром продуктів рестрикції порівняно з маркером GeneRuler 100 bp («Fermentas», Литва) за використання програмного пакету Quantity One[®] Version 4.6.3 (BioRad, США). Математичну обробку даних проводили за використання спеціалізованого макроса GenAIEx6 для MS EXCEL [5].

Результати досліджень та їх обговорення. Генетичну структуру дослідженої популяції української черно-рябої молочної породи великої рогатої худоби за п'ятьма генотипами визначали за розподілом алельних частот. За всіма молекулярно-генетичними маркерами нами виявлено поліморфізм, при цьому спостерігали лише основні алельні варіанти досліджених ділянок генів, типові для європейських порід худоби: А і В – для генів κ -казеїну, β -лактоглобуліну та Pit-1, L і V – для гена GH та А і G – для PRL. На рисунку 1 представлено спектри електрофоретичного розділення продуктів рестрикції за аналізу поліморфізму досліджених генів.

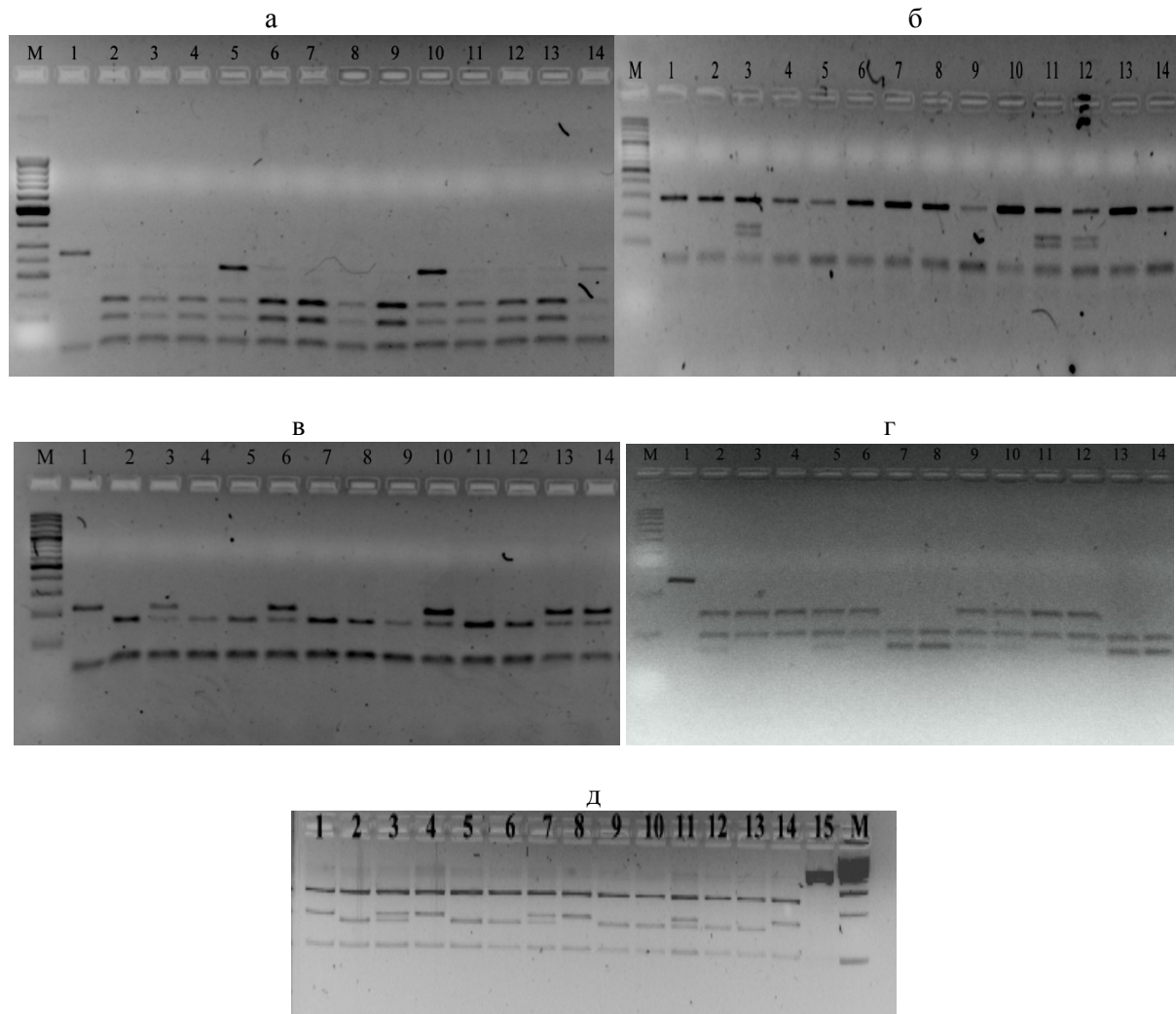


Рис. 1. Спектри рестрикційних фрагментів локусів *QTL*-генів: а) κ -казеїну: 2–4, 6–9, 11–13 – генотип AA; 5, 10, 14 – генотип AB; б) PRL: 1 – продукт ПЛР, 2, 4–10, 13, 14 – генотип AA; 3, 11, 12 – генотип AG; в) GH: 2, 4, 5, 7–9, 11, 12 – генотип LL; 3, 6, 10, 13, 14 – генотип LV; г) β -лактоглобуліну: 2, 5, 9, 10, 12 – генотип AB; 3, 4, 6, 11 – генотип AA; 7, 8, 13, 14 – генотип BB; д) Pit-1: 1, 2, 4–6, 8–10, 12–14 – генотип BB; 3, 7, 11 – генотип AB. М – маркер довжин продуктів рестрикції (GeneRuler 100 bp); 1 – продукт ПЛР.

У дослідженому стаді корів переважають тварини з генотипом AA за локусом гена κ -казеїну (рис. 1а), AA – пролактину (рис. 1б), LL – гормону росту (рис. 1в), AB – β -лактоглобуліну (рис. 1г), BB – Pit-1, тимчасом, згідно з даними літератури [2], з кращими показниками молочної продуктивності в худоби української черно-рябої молочної породи асоційовані генотипи AB, AG, LV, AB та AA відповідних генів. Найвищий рівень фактичної гетерозиготності (H_e) виявлено за локусом β -лактоглобуліну (70 %), найменший – за локусом гормону росту (10 %) (табл. 1). Статистично достовірні відмінності між фактичною і очікуваною гетерозиготністю (H_e) в дослідженій групі тварин виявлено лише за локусом β -лактоглобуліну ($p < 0,05$).

Таблиця 1 – Розподіл алельних частот, гетерозиготність та χ^2 -тест за дослідженими генами кількісних ознак

Локус	Алель	Частоти	Гетерозиготність		χ^2	Вірогідність
			H_o	H_e		
k-казеїн	A	0,925	0,150	0,139	0,131	0,717
	B	0,075				
β -лактоглобулін	A	0,650	0,700	0,455	5,799	0,016*
	B	0,350				
GH	L	0,950	0,100	0,095	0,055	0,814
	V	0,050				
PRL	A	0,800	0,400	0,320	1,250	0,264
	G	0,200				
Pit-1	A	0,375	0,400	0,420	0,045	0,831
	B	0,625				

* - $p < 0,05$

На основі розподілу алельних частот обчислено основні показники генетичної мінливості дослідженої популяції великої рогатої худоби: ефективне число алелів (n_e), індекс гетерогенності Шеннона (I) та індекс фіксації Райта (F_{is}) (табл. 2). Розмах показника n_e становив від 1,105 (GH) до 1,835 (β -лактоглобулін). Значення індексу Шеннона варіювали від 0,199 до 0,647 і загалом були порівнянними зі значеннями ефективної кількості алелів. Обчислення індексу фіксації Райта, який відображає інбридинг особини відносно популяції, довело наявність надлишку гетерозигот за чотирма з досліджених локусів (за винятком гіпофіз-специфічного фактора Pit-1).

Виявлені особливості генетичної структури стада корів СТОВ «Агросвіт» за поліморфізмом п'яти QTL-генів дають змогу оцінити його продуктивний потенціал і розробити стратегію подальшої селекційної роботи зі стадом.

Таблиця 2 – Значення основних показників генетичної різноманітності досліджених тварин

	Кількість алелів	Ефективне число алелів (n_e)	Індекс Шеннона (I)	Індекс фіксації (F_{is})
k-казеїн	2	1,161	0,266	-0,081
β -лактоглобулін	2	1,835	0,647	-0,538
GH	2	1,105	0,199	-0,053
PRL	2	1,471	0,500	-0,250
Pit-1	2	1,724	0,611	0,048

Висновки та перспективи подальших досліджень. Таким чином, досліджено «генетичний портрет» стада корів чорно-рябої породи СТОВ «Агросвіт» за генами k-казеїну, пролактину, β -лактоглобуліну, гормону росту та гіпофіз-специфічного фактора транскрипції. Генетична структура дослідженої групи тварин відповідає генетичній структурі порід молочного напрямку продуктивності. Низька частота господарсько цінних алелів за генами k-казеїну та гормону росту свідчать про недостатній продуктивний потенціал стада та необхідність удосконалення селекційної роботи в ньому.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гиль М.І. Генетичний аналіз полігенно обумовлених та поліморфних ознак худоби молочних порід: автореф. дис. д-ра с.-г. наук / М.І. Гиль. – Чубинське Київської обл., 2011. – 41 с.
2. Копилов К.В. ДНК-діагностика генетичних ресурсів великої рогатої худоби: автореф. дис. д-ра с.-г. наук / К.В. Копилов. – Чубинське Київської обл., 2011. – 33 с.
3. Методичні рекомендації щодо використання методу полімеразної ланцюгової реакції в скотарстві / Р.В. Облп, Н.Б. Новак, М.Д. Мельничук, Т.М. Димань, О.В. Дубін / За ред. Т.М. Димань. – Біла Церква, 2010. – 66 с.
4. Carter M.J. An inexpensive and simple method for DNA purifications on silica particles / M.J. Carter, I. D. Milton // Nucleic Acids Res. – 1993. – Vol.21. – P.1044–1046.
5. Peakall R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P.E. Smouse // Molecular Ecology Notes. – 2006. – Vol. 6. – P.288–295.

Генетическая структура стада украинской черно-пестрой молочной породы крупного рогатого скота ООО «Агросвит» по полиморфизму QTL-генов

А.В. Дубин, Т.Н. Дымань

Проведен анализ генетической структуры стада украинской черно-пестрой молочной породы крупного рогатого скота ООО «Агросвит» по полиморфизму пяти QTL-генов, ассоциированных с молочной продуктивностью. На основе распределения аллельных частот определены основные показатели генетической изменчивости исследованной попу-

ляции скота: эффективное число аллелей, индекс гетерогенности Шеннона и индекс фиксации Райта. Установлена низкая частота хозяйственно ценных аллелей по генам к-казеина и гормона роста, что свидетельствует о недостаточном продуктивном потенциале и необходимости совершенствования селекционной работы в стаде.

Ключевые слова: генетическая структура, к-казеин, β -лактоглобулин, гормон роста, гипофиз-специфический фактор транскрипции, пролактин.

Genetic structure of herd of Ukrainian Black and White dairy breed of Ltd. "Agrosvit" on QTL-genes

A. Dubin, T. Dyman

The analysis of genetic structure of herd of Ukrainian Black and White Dairy cattle breed in Ltd "Agrosvit" on polymorphism of five QTL-genes associated with milk production have been conducted.

On the basis of allele frequency distribution it has been calculated the main indices of genetic variability of investigated cattle population: effective number of alleles, Shannon index and Rite index. It has been revealed the low frequency of economic valuable alleles on k-casein and growth hormone genes.

The analysis allows conclude that the productive potential of investigated herd is not sufficient.

There is a necessity in improvement of selection activity in this herd.

Key words: genetic structure, k-casein, β -lactoglobulin, growth hormone, Pit-1, prolactin.

УДК 577.2:575:57.08:658.562

ОБЛАП Р.В., канд. біол. наук; **НОВАК Н.Б.**, канд. с.-г. наук

ДП «Укрметртестстандарт», м. Київ

ДИМАНЬ Т.М., д-р с.-г. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ КУКУРУДЗИ ЛІНІЇ MON 810 У ПРОДОВОЛЬЧІЙ СИРОВИНІ ТА ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ ПЛР-РЧ

Розроблено тест-систему для ідентифікації та кількісного визначення генетично модифікованої кукурудзи лінії MON 810 за трансформаційною подією методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу (Real-Time PCR). Розроблена тест-система за своїми характеристиками відповідає вимогам міжнародних стандартів щодо проведення ПЛР-аналізу для якісного та кількісного визначення ГМО в продовольчій сировині і харчових продуктах. Тест-систему адаптовано під більшість приладів (Bio-Rad, Applied Biosystems, Corbett Research, Синтол, ДНК-технологія), якими обладнано діагностичні лабораторії України. Розроблена система значно дешевша порівняно з тест-системами, наявними нині на українському ринку.

За допомогою розробленої системи проведено моніторинг харчових продуктів та продовольчої сировини на наявність генетично модифікованої кукурудзи. Отримані результати свідчать про доцільність контролю харчової продукції щодо вмісту генетично модифікованих організмів (ГМО).

Ключові слова: генетично модифіковані організми, полімеразна ланцюгова реакція в режимі реального часу, кукурудза лінії MON 810, харчові продукти та продовольча сировина.

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. У практиці сільського господарства дедалі частіше використовують сучасні біотехнології. За останні 17 років розвитку цієї галузі площі, відведені під генетично модифіковані (ГМ) культури, зросли з 1,7 до 170 млн га [2]. Поряд з соєю, бавовною і ріпаком однією з найпоширеніших біотехнологічних культур є кукурудза. 2011 року посівні площі під ГМ кукурудзою досягли 51 млн га, що становило 32 % від усіх посівних площ, відведених під біотехнологічні культури. ГМ кукурудзу вирощують у 16 країнах світу, а найбільші її площі зафіксовано у США (33,9 млн га), Бразилії (9,1 млн га), Аргентині (3,9 млн га), Південній Африці (1,9 млн га) і Канаді (1,3 млн га) [9].

Трансгенну кукурудзу лінії MON 810 (YieldGard[®]) було розроблено фірмою Monsanto Canada Inc. Створення цієї лінії базується на технології рекомбінантних ДНК шляхом введення гена *cryIA(b)*, який було виділено з ґрунтової бактерії *Bacillus thuringiensis ssp. штам Kurstaki HD-1*. Продукт цього гена є природним інсектицидом і має активність проти деяких представників лускокрилих комах, включаючи совку (*Corn earworm*) та кукурудзяного метелика (*Ostrinia nubilalis*, ЕСВ). Останній – один із основних видів-шкідників кукурудзи в Україні. Експресія білка δ -ендотоксину *cryIA(b)* захищає рослини від ураження шкідниками і дає змогу уникати застосування хімікатів під час їх вирощування [1, 3].