

УДК 636.28.082.4

Сметана О.Ю., асистент *

Миколаївський державний аграрний університет

АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ГОЛШТИНСЬКОЇ ХУДОБИ ТА ЇЇ ПРОДУКТИВНОСТІ ЗА УМОВ ДІЇ СТАБІЛІЗУЮЧОГО ВІДБОРУ

Досліджено генетичну структуру групи дійних корів голштинської породи стада племзводу АТЗТ «Агро-Союз» за локусами CSN3, BLG, GH, LEP за умов дії стабілізуючого відбору. Проаналізовано взаємозв'язок систем вищезазначених структурних генів з основними ознаками молочної продуктивності в рамках груп використаних моделей.

Ключові слова: стабілізуючий відбір, голштинська худоба, ознаки молочної продуктивності, MAS-селекція, ПЛР-ПДРФ, CSN3, BLG, GH, LEP.

Традиційно для поліпшення господарсько-корисних ознак свійських тварин у селекційній практиці використовується спрямована форма відбору, проте, стабілізуюча має не менш важливе значення оскільки завжди в певній мірі супроводжує спрямовану, а особливо на етапі закріплення селекційного досягнення. Видатний український еволюціоніст І.І. Шмальгаузен визначав останню як процес елімінації всіх випадкових відхилень задля підвищення стійкості норми, що вже існує або тієї, яка встановлюється [1].

Окрім того, сучасні підходи вдосконалення порід тварин сільсько-господарських видів базуються на детальній оцінці генотипу особин, їх генетичного потенціалу, з використанням маркер-допоміжної селекції (Marker-assisted selection – MAS) [2]. Поряд з традиційними методами відбору тварин, селекція з використанням маркерів сприяє направленому формуванню генофондів із потрібними генними поєднаннями, що супроводжується зниженням економічних витрат на виробництво продукції [3]. Разом із тим, ефективність використання генетичних маркерів у селекційній роботі істотно залежить від вибору останніх і ознак, у контролі розвитку яких вони приймають участь, а також від селекційного завдання, що вирішується [4].

Аналіз останніх досліджень і постановка завдання. Попередньо в усіх дослідженнях стабілізуючого відбору, які започатковано з середини ХХ століття, застосовували методику розподілу сукупності тварин на три групи зі співвідношенням особин у них 1:2:1. Оскільки центральний клас був найчисельнішим, нараховуючи близько половини від усіх особин, то по відношенню до крайніх угруповань він є неоднорідним. В наших дослідженнях як альтернатива класичній моделі стабілізуючого відбору застосовується нова модель, суть якої полягає в розподіленні сукупності тварин на п'ять рівновеликих класів.

Зважаючи на недостатній рівень досліджень в області вивчення генетичної структури для порід молочної худоби при дії стабілізуючого відбору нами було проведено аналіз поліморфізму і розподілу алельних варіантів структурних генів, що беруть участь у формуванні господарсько-цінних ознак голштинських тварин. Було обрано і досліджено чотири локуси структурних генів, з метою охопити достатній

* Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук Гиль М. І.

спектр їх впливу на формування молочної продуктивності. Як відомо, гени капа-казеїну (*CSN3*), бета-лактоглобуліну (*BLG*) відповідальні за синтез білків молока [5], ген лептину (*LEP*) бере участь у синтезі жирів [6], а ген гормону росту (*GH*), окрім функції регулятора соматичного росту організму, має лактогенну та інсуліноподібну функції [7].

Методика дослідження. Дослідження було проведено в умовах племінного заводу АТЗТ «Агро-Союз» Дніпропетровської області на коровах голштинської породи. У досліді було використано показники загальних і місячних надоїв 65 племінних тварин в розрахунку за 305 дн. лактації (першої, другої, третьої і вищої). Розподіл тварин на групи було здійснено із застосуванням пробіт-методики, використовуючи дані п'яти промірів (см), а саме: висота в холці, коса довжина тулубу, глибина грудей, обхват грудей за лопатками та обхват п'ястка [8]. Контрольна модель ефекту стабілізуючого відбору (ЕСВ) передбачає розподіл корів молочного стада на класи мінус- (M^-), модальний (M_0) та плюс-варіанти (M^+), згідно меж $\bar{X} \pm 0,674\sigma$ [9]. За методикою дослідної моделі тварин поділили на п'ять груп (M^- , M^- , M_0 , M^+ , M^{++}) з використанням чотирьох меж: $\bar{X} \pm 0,842\sigma$ та $\bar{X} \pm 0,253\sigma$.

Аналіз поліморфізму досліджуваних генів проводили методом ПЛР-ПДРФ [10] у відділі молекулярно-генетичних та біохімічних досліджень Інституту рибного господарства НААН України. Експериментальний матеріал отримано від 68 корів. Кров для аналізу відбирали з яремної вени, висушували на марлевій основі і дезінфікували.

Виділення геномної ДНК проводили за допомогою комерційного набору «ДНК-сорб-Б», згідно рекомендацій виробника («АмплиСенс», Росія). Для проведення ПЛР аналізу використовували ампліфікатор «Терцик». Умови ПЛР реакції для кожного з досліджуваних генів специфічні. Використовувались праймери компанії «Синтол», Росія і Taq-полімераза виробництва «АмплиСенс», Росія. Далі продукти ампліфікації піддавали рестрикційному аналізу. Використовували рестриктази виробництва «Fermentas», Литва. Після інкубації продукти рестрикції аналізували методом електрофорезу, який проводили у 3% агарозному гелі з використанням $1 \times TAE$ буфера.

Визначення величини надою (кг), вмісту жиру (%) і білку (%) та кількості молочного жиру (кг) і білку (кг) за першу, другу, третю і вищу лактації в групах генотипів за досліджуваними локусами проводили з використанням стандартних біометричних методів [11]. Всі розрахунки виконані з використанням програми Microsoft Office Excel 2007.

Результати досліджень. Аналіз розподілу генотипів за геном капа-казеїну в досліджуваних нами групах обох моделей ефекту стабілізуючого відбору виявив певні закономірності (табл. 1, 2).

У контрольній моделі частота найбільш цінного алеля *B* вища в групі M^+ (0,35), а найменша – в модальному угрупованні (0,171). Тим часом тварини найбажанішого фенотипу – *BB* – є лише в межах модального класу, хоча їх частота становить лише 5,7%. Співставлення показників фактичної і очікуваної гетерозиготності дає можливість зазначити, що найменша відмінність спостерігається в M_0 -класі, більша – в M^- , найбільша – в M^+ , що пояснюється відсутністю гомозигот за алелем *B* в останніх двох групах.

Таблиця 1. Генетична структура груп корів контрольної моделі оцінки ЕСВ за геном *CSN3* та їх молочна продуктивність за вищу лактацію

Класи розподілу худоби	Генотип	<i>n</i>	<i>f</i>	Частота алеля	<i>He</i>	Надій, кг	Вміст жиру, %	Вміст білка, %
M ⁻	AA	12	0,545	A – 0,773 B – 0,227	0,351	9255±488	3,62±0,11	3,18±0,06
	AB	10	0,455			9156±547	3,69±0,15	3,23±0,10
	BB	0	0,000			-	-	-
M ₀	AA	25	0,714	A – 0,829 B – 0,171	0,284	9005±305	3,87±0,10	3,26±0,04
	AB	8	0,229			9310±521	3,86±0,26	3,20±0,04
	BB	2	0,057			10147±2905	3,60±0,12	3,16±0,25
M ⁺	AA	3	0,300	A – 0,650 B – 0,350	0,455	9915±927	3,67±0,16	3,26±0,02
	AB	7	0,700			8291±301	3,96±0,06	3,38±0,05
	BB	0	0,000			-	-	-
У середньому	AA	40	0,597	A – 0,784 B – 0,216	0,339	9148±238	3,78±0,07	3,24±,03
	AB	25	0,373			8963±290	3,82±0,10	3,27±0,04
	BB	2	0,030			10147±2905	3,60±0,12	3,16±0,25

У рамках дослідної моделі крайні плюс- і мінус-угруповання також мають вищу частоту алеля *B* капа-казеїну у порівнянні з трьома внутрішніми, але в M₀- та M⁺-класах в структурі майже по 7% генотипів *BB*. У групах M⁻ та M⁺ більша частота гетерозигот, ніж гомозигот *AA*, а різниця між фактичною часткою гетерозигот і очікуваною вища, ніж в трьох центральних класах, що повторює тенденцію контрольної моделі. Співставлення величин продуктивних ознак і генотипів за геном *CSN3* дало такі результати. У контрольній моделі ЕСВ у крайніх групах величина надоїв більша у тварин з генотипом *AA*, у модальному ж класі їм притаманний найменший надій, в той час як найбільший – в особин гомозиготних за алелем *B*. Вміст жиру і білку мають протилежну з надоєм тенденцію розподілу значень. У рамках дослідної моделі M⁻, M⁻ та M⁺-класи повністю копіюють характер розподілу значень продуктивних ознак крайніх груп контрольної моделі. У свою чергу клас M⁺ п'ятигрупового паттерну майже відповідає модальному – тригрупового, як і M₀ за вмістом білку, а ось за надоєм останній повторює розподіл крайніх класів.

За локусом *BLG* у наших дослідженнях M⁻ і M₀-групи контрольної моделі мають більшу частку алеля *B* (майже по 60%), а в класі M⁺ співвідношення алелей *A* та *B* становить 1:1 (табл. 3). В усіх групах частота гетерозигот значно перевищує частоту обох гомозиготних генотипів, навіть разом узятих, тим часом як очікувана гетерозиготність коливається в межах від 0,483 до 0,5.

При використанні моделі п'яти груп частота алелей гену *BLG* також однакова у крайніх плюс-варіант, а в решті груп частота алеля *B* більше половини і підвищується від M⁻ до M⁺ (табл. 4). Частка гетерозигот у класах M⁻, M⁻ та M₀ є найбільшою. При чому, в останніх двох угрупованнях вона перевищує 70%. Тим часом, група M⁺ відзначається найбільшою частотою гомозигот за алелем *B* і найменшою – за алелем *A*. Окрім того, в цьому класі, як і в M⁻, очікувана гетерозиготність передбачається більшою, ніж фактична, у той час як в інших угрупованнях – навпаки, при чому, в M⁻ та

M^+ різниця найвища.

Таблиця 2. Генетична структура груп корів дослідної моделі оцінки ЕСВ за геном *CSN3* та їх молочна продуктивність за вищу лактацію

Класи розподілу худоби	Генотип	<i>n</i>	<i>f</i>	Частота алеля	<i>He</i>	Надій, кг	Вміст жиру, %	Вміст білка, %
M^-	AA	5	0,385	A – 0,692 B – 0,308	0,426	9619±1113	3,61±0,23	3,20±0,13
	AB	8	0,615			8896±594	3,81±0,15	3,31±0,06
	BB	0	0,000			-	-	-
M^-	AA	12	0,750	A – 0,875 B – 0,125	0,219	9060±299	3,67±0,13	3,21±0,07
	AB	4	0,250			10932±913	3,91±0,59	3,97±0,21
	BB	0	0,000			-	-	-
M_0	AA	11	0,786	A – 0,857 B – 0,143	0,245	8853±501	3,90±0,17	3,29±0,06
	AB	2	0,143			8477±485	3,41±0,55	3,27±0,09
	BB	1	0,071			8093	3,68	3,33
M^+	AA	9	0,600	A – 0,767 B – 0,233	0,358	9111±626	3,90±0,16	3,22±0,07
	AB	5	0,333			8491±176	3,76±0,16	3,23±0,05
	BB	1	0,067			12201	3,51	2,98
M^{++}	AA	3	0,333	A – 0,667 B – 0,333	0,444	9915±927	3,67±0,16	3,26±0,02
	AB	6	0,667			8295±362	3,95±0,07	3,39±0,07
	BB	0	0,000			-	-	-
У середньому	AA	40	0,597	A – 0,784 B – 0,216	0,339	9148±238	3,78±0,07	3,24±,03
	AB	25	0,373			8963±290	3,82±0,10	3,27±0,04
	BB	2	0,030			10147±2905	3,60±0,12	3,16±0,25

Значення господарсько-корисних ознак залежно від генотипів за бета-лактоглобуліном в групах моделей ЕСВ мають певні особливості розподілу. Так, у крайніх класах контрольної моделі вміст жиру і білку збільшується в послідовності $AA \rightarrow AB \rightarrow BB$, а в модальному просторі – навпаки. Надій же найменший у гетерозиготних корів, а в M^+ -угрупованні – і у гомозиготних за алелем *B*.

Використання дослідної моделі оцінки ЕСВ дало такі результати. Її група M^{++} повторює розподіл значень продуктивних ознак класу M^+ контрольної моделі. У решті груп найменшими за надоем знову ж таки виявились гетерозиготи, а за вмістом жиру і білку в угрупованнях M^- та M^+ останні навпаки характеризувались максимальними значеннями. Розподіл цих ознак в класах M^- та M_0 теж відрізняється від такого в групах контрольної моделі.

Таблиця 3. Генетична структура груп корів контрольної моделі оцінки ЕСВ за геном *BLG* та їх молочна продуктивність за вищу лактацію

Класи розподілу худоби	Генотип	<i>n</i>	<i>f</i>	Частота алеля	<i>He</i>	Надій, кг	Вміст жиру, %	Вміст білка, %
M ⁻	AA	3	0,136	A – 0,409 B – 0,591	0,483	9241±1788	3,53±0,36	3,15±0,10
	AB	12	0,546			9086±480	3,66±0,14	3,21±0,09
	BB	7	0,318			9409±578	3,68±0,12	3,22±0,07
M ₀	AA	4	0,111	A – 0,417 B – 0,583	0,486	10003±864	3,93±0,25	3,25±0,15
	AB	22	0,611			8771±362	3,87±0,14	3,26±0,04
	BB	10	0,278			9306±491	3,80±0,10	3,20±0,06
M ⁺	AA	2	0,200	A – 0,500 B – 0,500	0,500	9933±1853	3,79±0,10	3,28±0,08
	AB	6	0,600			8588±455	3,83±0,10	3,34±0,06
	BB	2	0,200			8193±264	4,07±0,16	3,42±0,18
У середньому	AA	9	0,132	A – 0,426 B – 0,574	0,489	9733±613	3,77±0,15	3,22±0,07
	AB	40	0,588			8838±243	3,80±0,08	3,26±0,03
	BB	19	0,280			9227±324	3,79±0,07	3,23±0,04

Таблиця 4. Генетична структура груп корів дослідної моделі оцінки ЕСВ за геном *BLG* та їх молочна продуктивність за вищу лактацію

Класи розподілу худоби	Генотип	<i>n</i>	<i>f</i>	Частота алеля	<i>He</i>	Надій, кг	Вміст жиру, %	Вміст білка, %
M ⁻	AA	3	0,231	A – 0,462 B – 0,538	0,497	9241±1788	3,53±0,36	3,15±0,10
	AB	6	0,461			8986±764	3,84±0,22	3,34±0,11
	BB	4	0,308			9407±1100	3,72±0,13	3,24±0,10
M ⁻	AA	1	0,059	A – 0,441 B – 0,559	0,493	9688	4,27	3,31
	AB	13	0,765			9281±516	3,73±0,18	3,15±0,09
	BB	3	0,176			9411±530	3,64±0,30	3,19±0,12
M ₀	AA	1	0,072	A – 0,429 B – 0,571	0,490	9154	4,33	3,59
	AB	10	0,714			8569±491	3,73±0,20	3,29±0,06
	BB	3	0,214			9196±1168	3,94±0,12	3,19±0,06
M ⁺	AA	2	0,133	A – 0,333 B – 0,667	0,444	10586±2285	3,56±0,07	3,04±0,08
	AB	6	0,400			8335±615	4,01±0,21	3,27±0,05
	BB	7	0,467			9353±624	3,75±0,14	3,21±0,09
M ⁺⁺	AA	2	0,222	A – 0,500 B – 0,500	0,500	9933±1853	3,79±0,10	3,28±0,01
	AB	5	0,556			8653±562	3,79±0,12	3,34±0,07
	BB	2	0,222			8193±264	4,07±0,16	3,42±0,18
У середньому	AA	9	0,132	A – 0,426 B – 0,574	0,489	9733±613	3,77±0,15	3,22±0,07
	AB	40	0,588			8838±243	3,80±0,08	3,26±0,03
	BB	19	0,280			9227±324	3,79±0,07	3,23±0,04

Аналізуючи розподіл частот алелей гену гормону росту, можна відмітити, що частка бажаного алеля L в усіх групах контрольної моделі більша, особливо в крайніх варіант, де частота форми L більш ніж у тричі перевищує частоту алеля V (табл. 5). В класі M^- найбільша частка гомозигот LL і майже відсутні генотипи VV , у M^+ останніх взагалі немає, а гетерозигот і гомозигот LL – порівну. Модальний клас характеризується найбільшою фактичною гетерозиготністю, яка майже дорівнює очікуваній. А от в угрупованні M^+ очікувана гетерозиготність відчутно менша фактичної, проте в аналогах M^- -варіант вона майже тотожна.

Таблиця 5. Генетична структура груп корів контрольної моделі оцінки ЕСВ за геном GH та їх молочна продуктивність за вищу лактацію

Класи розподілу худоби	Генотип	n	f	Частота алеля	He	Надій, кг	Вміст жиру, %	Вміст білка, %
M^-	LL	13	0,591	$L - 0,773$ $V - 0,227$	0,351	9183±356	3,64±0,09	3,21±0,05
	LV	8	0,364			9044±807	3,63±0,20	3,18±0,14
	VV	1	0,045			10882	3,92	3,24
M_0	LL	14	0,400	$L - 0,629$ $V - 0,371$	0,467	8993±358	3,87±0,14	3,27±0,05
	LV	16	0,457			9322±526	3,81±0,14	3,16±0,05
	VV	5	0,143			8762±242	3,73±0,19	3,41±0,10
M^+	LL	5	0,500	$L - 0,750$ $V - 0,250$	0,375	8964±786	3,83±0,12	3,34±0,07
	LV	5	0,500			8592±354	3,91±0,09	3,34±0,06
	VV	0	0,000			-	-	-
У середньому	LL	32	0,478	$L - 0,694$ $V - 0,306$	0,425	9066±225	3,77±0,07	3,26±0,03
	LV	29	0,433			9119±354	3,78±0,09	3,20±0,04
	VV	6	0,089			9115±433	3,77±0,16	3,39±0,09

В класах M^- , M , M_0 та M^{++} частота алеля L значно перевищує частоту V -форми гена GH (табл. 6). У перших трьох групах серед генотипів найбільша частота належить гомозиготам LL , потім гетерозиготам, а найменша – гомозиготам VV . У M^{++} -угрупованні взагалі відсутні VV -особини, а найбільша частка в структурі генотипів належить гетерозиготам. Клас M^+ дуже відрізняється від решти в системі п'яти груп. В ньому частота алеля V переважає, а також гетерозигот більш, ніж половина. А тому, в цьому, як і в M^{++} -класі, очікувана гетерозиготність відчутно менша, ніж фактична, тим часом, як в інших групах ці параметри відносно однакові.

Порівняння розподілу значень господарсько-корисних ознак залежно від генотипу за геном соматотропіну в угрупованнях моделей оцінки ефекту стабілізуючого відбору дозволяє констатувати наступне. За надоем у контрольній моделі в класах M^- та M^+ гетерозиготні корови мають мінімальне значення, а в модальній групі максимальне. У дослідній моделі в трьох внутрішніх угрупованнях гетерозиготи також мають підвищений надій, а в M_0 та M^+ він найвищий. Крайні класи цієї моделі за розподілом значень надою тотожні до таких у контрольному паттерні, не враховуючи особин гомозиготних за алелем L , оскільки до мінус-груп потрапила всього одна така особина,

а до плюс-групи – жодної. За вмістом жиру і білку в угрупованнях обох моделей оцінки ЕСВ чіткої системності не знайдено.

Таблиця 6. Генетична структура груп корів дослідної моделі оцінки ЕСВ за геном *GH* та їх молочна продуктивність за вищу лактацію

Класи розподілу худоби	Генотип	<i>n</i>	<i>f</i>	Частота алеля	<i>He</i>	Надій, кг	Вміст жиру, %	Вміст білка, %
M ⁻	LL	7	0,538	L – 0,731 V – 0,269	0,393	9167±581	3,66±0,13	3,25±0,06
	LV	5	0,385			8842±1201	3,80±0,29	3,29±0,16
	VV	1	0,077			10882	3,92	3,24
M ⁻	LL	10	0,588	L – 0,765 V – 0,235	0,360	9426±371	3,68±0,16	3,17±0,06
	LV	6	0,353			9272±1057	3,88±0,36	3,04±0,17
	VV	1	0,059			8692	3,65	3,65
M ₀	LL	9	0,643	L – 0,786 V – 0,214	0,337	8511±420	3,88±0,16	3,31±0,06
	LV	4	0,286			9169±1220	3,56±0,40	3,17±0,07
	VV	1	0,071			9154	4,33	3,59
M ⁺	LL	2	0,143	L – 0,464 V – 0,536	0,497	9259±1404	4,14±0,13	3,34±0,02
	LV	9	0,643			9443±673	3,73±0,09	3,14±0,07
	VV	3	0,214			8654±352	3,56±0,15	3,28±0,05
M ⁺⁺	LL	4	0,444	L – 0,722 V – 0,278	0,401	9139±1016	3,78±0,14	3,34±0,10
	LV	5	0,556			8592±354	3,91±0,09	3,34±0,06
	VV	0	0,000			-	-	-
У середньому	LL	32	0,478	L – 0,694 V – 0,306	0,425	9066±225	3,77±0,07	3,26±0,03
	LV	29	0,433			9119±354	3,78±0,09	3,20±0,04
	VV	6	0,089			9115±433	3,77±0,16	3,39±0,09

При дослідженні поліморфізму гену *LEP* в групах контрольної моделі встановлено найбільшу частоту бажаного алеля *T* в межах модального і M⁺-класу, але в останньому немає гомозигот *TT*, а частка гетерозиготних особин дорівнює 90 %, тим часом в групах M₀ і M⁻ гетерозигот близько половини (табл. 7). Відповідно до вищезазначеного в останніх двох класах фактична і очікувана гетерозиготність майже не відрізняються, а в M⁺-угрупованні фактично значно перевищує очікувану.

Використання дослідної моделі дало можливість встановити, що найменшою часткою алеля *T* характеризується група M⁻ (0,308), у той час як у решті класів, його частота коливається в межах від 44 до 47 % (табл. 8). Крайні групи приблизно повторюють частотний розподіл за генотипами відповідних плюс- і мінус-груп контрольної моделі. В угрупованнях M⁻, M₀, M⁺ доля гетерозигот є найбільшою відносно частки гомозигот, при чому в центральному класі більш, ніж втричі. Очікувана гетерозиготність в групах M⁻ і M⁺ дещо менша від фактичних даних, в M⁻ – дещо більша, а в M₀ та M⁺⁺ – відчутно менша, особливо в останньому класі.