

ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ МАТОЧНОГО ПОГОЛІВ'Я ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ ЗА СИСТЕМАМИ ГРУП КРОВІ ТА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ

О. В. СИДОРЕНКО, кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії банку генетичних ресурсів тварин,

<https://orcid.org/0000-0003-2429-9361>

Ю. В. ГУЗЄЄВ

Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН

E-mail: sydorenkoolena@ukr.net

Анотація. Для об'єктивної характеристики генофонду порід сільськогосподарських тварин і оцінювання генетичної ситуації в стадах використовують генетичні маркери систем груп крові і мікросателітні локуси. Проведено оцінку генетичної різноманітності маточного поголів'я великої рогатої худоби сірої української породи за двома генетичними системами. Матеріалом для дослідження стали зразки крові корів сірої української породи з господарства «Голосієво», Бориспільського району Київської області. Визначення генотипів корів проводили за 13 мікросателітними локусами: BM1818, BM2113, BM1824, SPS115, TGLA227, ETN225, ETN10, TGLA126, TGLA122, ILST005, INRA023, ETN185, ILST006, що включені до списку рекомендованих для великої рогатої худоби Міжнародним товариством генетиків тварин (ISAG). Визначення груп крові проводили за загальноприйнятими методами. Для аналізу були використані антигени еритроцитів 37 факторів 7 систем: A1, A2 (EAA); Z', B2, G2, I1, O1, O2, O3, O4, T2, A', B', D', E'3, F', J', K', D', Q', Y', G'', I'' (EAB); C1, C2, E, R1, R2, W, X2 (EAC); F, V (EAF); L (EAL); S1, H'', U'' (EAS); Z (EAZ). Статистичну обробку даних проводили за загальноприйнятими методами за допомогою програмного забезпечення GenAlEx версії 6.51. У корів було встановлено 68 алельних варіантів за системами груп крові та 80 – за мікросателітними локусами. Рівень фактичної гетерозиготності за поліморфними системами груп крові у корів знаходився в межах від 0,083 (EAZ) до 1,0 (EAB) і в середньому становив 0,228. Рівень фактичної гетерозиготності колився від 0,390 (SPS 115) до 0,756 (BM 1824, TGLA 122, BM 2113) і в середньому становив 0,655. Оцінені показниками генетичної мінливості популяції корів сірої української породи за системами груп крові і мікросателітними локусами виявились високоінформативними і вказують на високий ступінь поліморфізму. Розподіл алелів та ступеня гетерозиготності у корів української сірої породи бул рівномірним. У подальшому, щоб отримувати повну генетичну характеристику стану та структури популяції, слід використовувати системи груп крові в поєднанні з мікросателітними локусами.

Ключові слова: алель, антиген, локус, гетерозиготність, популяція, поліморфізм

Актуальність.

Основною умовою у збереженні порід тварин є визначення методів і принципів виявлення їх генетичного різноманіття. Для об'єктивної характеристики генофонду порід сільськогосподарських тварин і оцінювання генетичної ситуації в стадах знаходять застосування генетичні маркери (Цілуйко і Заблудовський, 2000). Використання генетичних маркерів дозволяє оцінити рівень гетерозиготності тварин, рівні консолідації спадкових якостей структурних одиниць порід та генетичну мінливість між ними.

Серед порід великої рогатої худоби, які заслуговують уваги щодо збереження та раціонального використання велику цінність становить сіра українська порода. Дана порода є однією з унікальних аборигенних порід, яка зберігає неповторний комплекс алельних варіантів генів та може виступати джерелом незамінного генетичного матеріалу в породотворному процесі (Назаренко та ін., 2014).

Аналіз останніх досліджень та публікацій.

Генетичний моніторинг великої рогатої худоби сірої української породи за системами груп крові здійснюється провідними вченими не один десяток років. Основними напрямками були визначення популяційної мінливості в поколіннях, вивчення мікроеволюції, філогенезу та аналізу і оцінки селекційного процесу в довгострокових комплексних системних дослідженнях (Мещеряков і Подоба, 1971; Назаренко та ін., 2012).

Відкриттям нових методів молекулярного аналізу на рівні високополіморфних послідовностей ДНК створило

нові можливості у вивченні біорізноманітності сірої української худоби. До перспективних маркерів відносять мікросателіти – короткі тандемні повтори (STR), які розташовані в некодуючих ділянках ДНК, поліморфізм яких обумовлений відмінностями у послідовності нуклеотидів різних алелів одного локусу (Зиновьева і др., 2011).

Мета дослідження – оцінити рівень генетичної різноманітності маточного поголів'я великої рогатої худоби сірої української породи ТОВ «Голосієво» за системами груп крові і мікросателітними локусами.

Матеріали і методи досліджень.

Матеріалом для досліджень слугували проби крові корів сірої української породи стада ТОВ «Голосієво» с. Гоголів, Броварського району Київської області. Виділення ДНК проводили в лабораторії молекулярної генетики і цитогенетики тварин центру біотехнології та молекулярної діагностики тварин Всеросійського науково-дослідного інституту тваринництва за методикою, описаною Зинов'євою Н. А. та ін. (1998). Визначення генотипів корів ($n = 41$) здійснювали за 13 мікросателітними локусами: BM1818, BM2113, BM1824, SPS115, TGLA227, ETN225, ETN10, TGLA126, TGLA122, ILST005, INRA023, ETN185, ILST006, які включені до переліку рекомендованих Міжнародним товариством генетиків тварин (ISAG, 2011), для великої рогатої худоби. Електрофоретичне розділення фрагментів ДНК методом капілярного електрофореза проводили на приладі Mega Base 500. Для ідентифікації алелів досліджених мікросателітних локусів використовували програмне забезпечення Genetic Profiler 2.0.

Визначення груп крові корів сірої української породи ($n = 42$) проведено в лабораторії імуногенетики ВАТ «Московське» з племінної роботи Регіонального інформаційно-селекційного центру м. Нагінск (Росія) за загальноприйнятими методиками в гематологічних тестах. Для аналізу було використано еритроцитарні антигени 37 факторів 7 систем (EA): A1, A2 (EAA); Z', B2, G2, I1, O1, O2, O3, O4, T2, A', B', D', E'3, F', J', K', D', Q', Y', G'', I'' (EAB); C1, C2, E, R1, R2, W, X2 (EAC); F, V (EAF); L (EAL); S1, H'', U'' (EAS); Z (EAZ).

Для проведення популяційно-генетичного аналізу визначали такі показники: кількість алелів на локус (Na), ефективну кількість алелів (Ne), фактичну (No) і теоретично очікувану (Ne) гетерозиготність, індекс фіксації (F). Достовірність відхилення фактичного розподілу генотипів від теоретичного за критерієм Пірсона (χ^2). Статистичну обробку даних проводили за загальноприйнятими методиками з використанням програмного забезпечення GenAlEx версія 6.51 (Peakall, 2012).

Результати дослідження та їх обговорення.

За результатами досліджень було встановлено генетичну структуру маточного поголів'я великої рогатої худоби сірої української породи в ТОВ «Голосієво» за системами груп крові та мікросателітними локусами. Загалом було ідентифіковано 68 алельних варіантів за 7 системами групами крові та 80 – за 13 мікросателітними локусами.

Нами було проаналізовано показники генетичної мінливості корів сірої української породи за системами груп крові (табл. 1).

У дослідженій популяції корів не було встановлено поліморфізму алелів за трьома системами груп крові EAC, EAS і EAL. За системою EAC у дослідженого поголів'я корів виявлено 23 алелі. За системою EAS лише у 18 корів, встановлено 4 алелі, а за системою EAL алель L був наявний лише у 6 корів. Виявлено по два алелі за системами груп крові EAF і EAZ, а за системою EAA – три. Ефективна кількість алелів за цими системами була в межах від 1,087 (EAZ) до 1,819 (EAA). За найбільш поліморфною системою EAB груп крові у корів виявлено 33 алелі, а ефективна їх кількість на локус склала – 17,465. В середньому фактична кількість алелів на локус за поліморфними системами груп крові становила 5,571, а ефективних алелів – 3,109.

Рівень фактичної гетерозиготності за дослідженими системами груп крові знаходився в межах від 0,083 (EAZ) до 1,0 (EAB) і в середньому становив 0,228. Рівень теоретично очікуваної гетерозиготності майже не відрізнявся від фактичної і знаходився в межах від 0,080 до 0,943.

Індекс фіксації (F) визначають для оцінки гетерозиготності популяції щодо гетерозиготності в субпопуляції з панміксією (Кузнецов, 2014). Встановлено досить високе додатне значення індексу фіксації за системою EAA (0,501), різниця ступеня фактичної гетерозиготності до теоретично очікуваної відповідно до закону Харді-Вайнберга статистично вірогідна ($p < 0.001$). За системами EAB і EAF встановлене від'ємне значення індексу фіксації та свідчить про більшу чисельність гетерозиготних генотипів порівняно до теоретично очікуваної. В середньому за системами груп крові рівень фактичної гетерозиготності корів сірої української породи був

1. Генетична мінливість корів сірої української породи за системами груп крові

Система	Кількість алелів (Na)	Ефективна кількість алелів (Ne)	Фактична гетерозиготність (Ho)	Теоретична гетерозиготність (He)	Індекс фіксації (F)	χ^2
EAA	3	1,819	0,190	0,450	0,501	16,629***
EAB	33	17,465	1,000	0,943	-0,061	516,660
EAF	2	1,477	0,405	0,323	-0,254	2,704
EAZ	2	1,087	0,083	0,080	0,173	-
В середньому	5,571 ± 4,592	3,109 ± 2,410	0,228 ± 0,141	0,245 ± 0,136	0,088 ± 0,164	-

Примітка: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

меншим порівняно до теоретично очікуваного, про що свідчить позитивне значення індексу фіксації (0,088).

В таблиці 2 наведено показники генетичної мінливості корів сірої української породи за мікросателітними локусами.

Загальна кількість алелів (Na) на локус за мікросателітними локусами коливалася від 4 (ETN 10, INRA 023, BM 1818) до 10 (TGLA 227, TGLA 122) і середньому становила – 6,154. Цей показник відображає досить високий рівень генетичної різноманіт-

2. Генетична мінливість корів сірої української породи за мікросателітними локусами ДНК

Локус	Кількість алелів (Na)	Ефективна кількість алелів (Ne)	Фактична гетерозиготність (Ho)	Теоретична гетерозиготність (He)	Індекс фіксації (F)	χ^2
BM 1818	4	2,576	0,659	0,612	-0,076	6,342
BM 2113	7	3,002	0,756	0,667	-0,134	89,348***
BM 1824	5	4,272	0,756	0,766	0,013	41,144***
SPS 115	8	2,561	0,390	0,609	0,360	63,753***
TGLA 227	10	7,589	0,707	0,868	0,185	55,139
ETN 225	5	3,803	0,707	0,737	0,040	10,455
ETN 10	4	2,541	0,610	0,606	-0,005	2,906
TGLA 126	5	3,413	0,659	0,707	0,069	5,091
TGLA 122	10	3,104	0,756	0,678	-0,115	34,503
ILST 005	5	3,277	0,512	0,695	0,263	34,656***
INRA 023	4	3,230	0,585	0,690	0,152	16,560*
ETN 185	7	3,900	0,732	0,744	0,016	26,324
ILST 006	6	2,886	0,683	0,653	-0,045	7,935
В середньому	6,154 ± 0,587	3,550 ± 0,368	0,655 ± 0,030	0,695 ± 0,020	0,056 ± 0,041	-

Примітка. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

ності тварин дослідженої популяції. Ефективна кількість алелів (N_e) у корів знаходилась в межах від 2,541 (ETN 10) до 7,589 (TGLA 227) і в середньому на локус становила 3,550.

Рівень фактичної гетерозиготності (H_o) у корів був в межах від 0,390 (SPS 115) до 0,756 (BM 1824, TGLA 122, BM 2113) і в середньому становив 0,655. Рівень очікуваної гетерозиготності коливався від 0,606 (ETN 10) до 0,868 (TGLA 227) і в середньому становив 0,695. Встановлено позитивний індекс фіксації за більшістю мікросателітних локусів, що свідчить про недостатню гетерозиготність особин у дослідженій популяції сірої української породи, особливо за локусом TGLA 122 (0,343). Встановлено незначне від'ємне значення індексу фіксації у корів лише за 5 локусами (BM 1818, ETN 10, TGLA 122, ILST 006 і BM 2113), що свідчить про невисокий надлишок гетерозиготних генотипів за цими локусами. Виявлено вірогідну різницю ($p < 0,05$) між фактичним та очікуваним розподілом генотипів відповідно до закону Харді-Вайнберга за локусами BM 2113, BM 1824, SPS 115, ILST 005 і INRA 023.

Висновки і перспективи.

Оцінені показниками генетичної мінливості за системами груп крові і мікросателітними локусами корів сірої української породи ТОВ «Голосієво», виявились високоінформативними і мають високий ступінь поліморфізму. Розподіл кількості алелів і ступінь гетерозиготності у корів сірої української породи за мікросателітними локусами мала рівномірний характер порівняно за системами груп крові.

В подальших дослідженнях для отримання більш повної генетичної

характеристики про стан і структуру популяцій тварин великої рогатої худоби слід поєднувати використання двох типів маркерів: систем груп крові і мікросателітні локуси.

Список літератури

1. Цілуйко, Г. О., Заблудовський, Є. Є. Методичні рекомендації по застосуванню генетичних маркерів в селекції м'ясної худоби. За ред. Б. Є. Подоби. К.: Наук. світ, 2000. 20 с.
2. Назаренко, В. Г., Омельченко, Л. О., Руканнікова, Г. І. Імуногенетична оцінка лінійних формуваль сірої української породи. Науковий вісник "Асканія-Нова", 2014. Вип. 7. С. 167–173.
3. Назаренко, В. Г., Вороненко, В. І., Омельченко Л. О. Імуномікрофілогенез великої рогатої худоби сірої української породи. Науковий вісник "Асканія-Нова", 2012. Вип. 5 (2). С. 95–105.
4. Мещеряков, В. Я., Подоба, Б. Є. Групи крові великої рогатої худоби сірої української та білоголової української порід. Молочно-м'ясне скотарство: респ. міжвід. темат. наук. зб. К.: Урожай, 1971. Вип. 24. С. 7–12.
5. Зиновьева, Н. А., Харзинова, В. З., Логвинова, Т. И. Микросателлитные профили как критерии определения чистопородности и оценки степени гетерогенности подборов родительских пар в свиноводстве. Сельскохозяйственная биология, 2011. № 6. С. 47–53.
6. Зиновьева, Н. А., Попов, А. П., Эрнст, Л. К. Методические рекомендации по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве. Дубровицы: ВИЖ, 1998. 48 с.
7. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. № 9. Rome, Italy : FAO of the UN, Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, 2011. 87 p.

8. Peakall, R., Smouse, P. E. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 2012. № 28. P. 2537–2539.
9. Кузнецов, В. М. F-статистики Райта: оценка и интерпретация. Проблемы биологии продуктивных животных, 2014. № 4. С. 80–104.
10. Gray and white-headed Ukrainian breeds]. *Dairy and beef cattle*. 24. 7–12.
5. Zinovieva, N.A., Harzinova V. R., Logvinova T. I., Gladyr' E. A., Sizareva E. I., Chinarov Yu. I. (2011). Mikrosatelitnyie profili kak kriterii opredeleniya chistoporodnosti i otsenki stepeni geterogenosti podborov roditel'skikh par v svinovodstve [Microsatellite profiles as criteria for confirmation of breed purity and for evaluation of heterogeneity degree of parents pairs in pig breeding]. *Agricultural biology*. 6. 47–53.
6. Zinovieva, N. A., Popov, A. P., Ernst, L. K., Marzanov, N. S., Bochkarev, V. V., Strekozov, N. Y., Brem, H. (1998). Metodicheskie rekomendatsii po ispolzovaniyu metoda polimeraznoy tsepnoy reaktsii v zhivotnovodstve [Guidelines for the use of the polymerase chain reaction method in animal husbandry]. *Dubrovitsyi: VIZh*. 48.
7. FAO. 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. *FAO Animal Production and Health Guidelines*. Rome. 9. 87.
8. Peakall, R. and Smouse P. E. (2012). GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*. 28. 2537–2539.
9. Kuznetsov, V. M. (2014). F-statistiki Rayta: otsenka i interpretatsiya [Wright's F-statistics: estimation and interpretation]. *Problems of Productive Animal Biology*. 4. 80–104.

References

1. Tsilyuko, H. O., Zabludovskyy, Ye. Ye. (2000). Metodichni rekomendatsiyi pozastosuvannya henetychnykh markeriv v selektsiyi myasnoyi khudoby [Methodological recommendations on the use of genetic markers in beef cattle breeding]. *Kyiv: Naukovyy svit*, 20.
2. Nazarenko, V. H., Omelchenko, L. O., Rukavnikova, H. I. (2014). Imunohenetychna otsinka liniinykh formuvan siroi ukrainskoi porody [Immunogenetic evaluation of linear groups of Gray Ukrainian breed]. *Scientific Bulletin of the "Askania-Nova"*. 7. 167–173.
3. Nazarenko, V. G., Voronenko, B. I., Omelchenko, L. A. (2012). Immunomikrofilohenez velykoi rohatoi khudoby siroi ukrainskoi porody [Immuno-microphilogenesis of cattle of Ukrainian Gray breed]. *Scientific Bulletin of the "Askania-Nova"*. 5 (2). 95–105.
4. Meshcheriakov, V. Ya., Podoba, B. Ye. (1971). Hrupy krovi velykoi rohatoi khudoby siroi ukrainskoi ta biloholovoї ukrainskoi pored [Blood groups of cattle of Ukrainian

O. V. Sydorenko, Yu. V. Gyzieev (2019). ASSESSMENT OF GENETIC VARIABILITY OF DAM UKRAINIAN GRAY BREED CATTLE BY BLOOD GROUP SYSTEMS AND MICROSATELLITE LOCI. ANIMAL SCIENCE AND FOOD TECHNOLOGY, 10(3): 56-62. <https://doi.org/10.31548/animal2019.03.056>

Abstract. For objective characteristics of the gene pool of farm animal breeds and genetic assessment of the situation in the stud using the genetic markers of the system of blood groups and microsatellite loci. Assessment of genetic diversity of breeding stock of Gray Ukrainian breed cattle with two genetic systems. Material for the study was the blood samples of cows gray

Ukrainian breed herds, «Golosiєvo» farm, Kyiv region. Determination of genotypes of cows was performed for 13 microsatellite loci: BM1818, BM2113, BM1824, SPS115, TGLA227, ETN225, ETN10, TGLA126, TGLA122, ILST005, INRA023, ETN185, ILST006, which is included in the list recommended by the International Society of Animal Geneticists (ISAG), for cattle. Determination of blood groups of cows of Gray Ukrainian breed was carried out according to generally accepted methods. Erythrocyte antigens of 37 factors of 7 systems were used for the analysis (EA): A1, A2 (EAA); Z', B2, G2, I1, O1, O2, O3, O4, T2, A', B', D', E'3, F', J', K', D', Q', Y', G'', I'' (EAB); C1, C2, E, R1, R2, W, X2 (EAC); F, V (EAF); L (EAL); S1, H'', U'' (EAS); Z (EAZ). Statistical data processing was carried out according to generally accepted methods using software GenAEx version 6.51. In cows, 68 allelic variants were established by blood groups and 80 – microsatellite loci. The level of observed heterozygosity by polymorphic systems of blood groups in cows ranged from 0.083 (EAZ) to 1.0 (EAB) and averaged – 0.228. The level of observed heterozygosity ranged from 0.390 (SPS 115) to 0.756 (BM 1824, TGLA 122, BM 2113) and averaged 0.655. Estimated by the indexes of genetic variability by blood group systems and microsatellite loci of cows of Ukrainian Gray breed of «Golosiєvo» farm, they appeared to be highly informative and have a high degree of polymorphism. The distribution of the number of alleles and the degree of heterozygosity in cows of Ukrainian Gray breed by microsatellite loci was uniform in comparison with the systems of blood groups. In subsequent studies, the use of two types of markers: blood group systems and microsatellite loci should be combined to obtain a more complete genetic characterization of the status and structure of bovine animal populations.

Keywords: allele, antigen, locus, heterozygosity, population, polymorphism.
