

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

---

ІНСТИТУТ РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКИ ТВАРИН

Б.Є. Подоба, К.В. Копилов, С.І. Ковтун,  
К.В. Копилова, Ю.В. Подоба, М.Л. Добрянська

**Молекулярно-  
генетичні  
та біотехнологічні  
ДОСЛІДЖЕННЯ  
в галузі  
тваринництва**

*За науковою редакцією  
академіка НААН  
М.В. ЗУБЦЯ*

Київ  
Аграрна наука  
2013

УДК 636:  
575.113:591.391  
ББК (65.32 - 5:40.3) (4 Укр)  
М75

*Рекомендовано до друку  
вченою радою Інституту розведення і генетики тварин НААН  
10 вересня 2012 р. (протокол № 360)*

*Рецензенти:*

**О.М. Дуган** - доктор біологічних наук, професор Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут», декан факультету біотехнології і біотехніки, завідувач кафедри промислової біотехнології;

**Т.М. Димань** - доктор сільськогосподарських наук, професор Білоцерківського національного університету, завідувач кафедри екотрофології;

**С.І. Тарасюк** - доктор сільськогосподарських наук, член-кореспондент НААН, заступник директора з питань біотехнологій Інституту рибного господарства, завідувач відділу молекулярно-генетичних і біохімічних досліджень

**Молекулярно-генетичні та біотехнологічні дослідження в галузі  
М 75 тваринництва** / Б.Є. Подоба, К.В. Копилов, С.І. Ковтун, К.В. Копилова,  
Ю.В. Подоба, М.Л. Добрянська / за наук. ред. акад. М.В. Зубця. - К.:  
Аграр. наука, 2013. - 248 с

ISBN 978-966-540-352-4

У книзі узагальнено методичні підходи до використання ДНК-маркерів у племінному тваринництві України. Викладено принципи проведення ДНК-діагностики. Наведено оптимізовані молекулярно-генетичні та біотехнологічні методики досліджень у тваринництві. Обґрунтовано методологію генетичного маркірування при виконанні молекулярно-генетичних досліджень на індивідуальному та популяційному рівнях. Висвітлено результати генетичного аналізу бугаїв-плідників різних порід, матеріал яких зберігається у Банку генетичних ресурсів тварин Інституту розведення і генетики тварин НААН. Подано науково обґрунтовані рекомендації щодо застосування молекулярно-генетичних та біотехнологічних досліджень у системі збереження генофонду тварин.

Розрахована на науковців, викладачів, аспірантів і студентів аграрних навчальних закладів, спеціалістів, які займаються молекулярно-генетичними та біотехнологічними дослідженнями в галузі тваринництва.

УДК 636: 75.113:591.391  
ББК (65.32 - 5:40.3) (4 Укр)

ISBN 978-966-540-352-4

© Б.Є. Подоба, К.В. Копилов, С.І. Ковтун,  
К.В. Копилова, Ю.В. Подоба,  
М.Л. Добрянська, 2013  
© Державне видавництво «Аграрна наука»  
НААН, 2013

*Посвящается памяти Учителя,  
доктора сельскохозяйственных наук,  
профессора, академика УААН*  
**БУРКАТА**  
**Валерия Петровича**

*Полную меру величия человека можно оценить по  
его влиянию на следующие за ним поколения...*

*У. Дюбуа*

---

# ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА .....	8
<b>1. ЗАГАЛЬНІ ПИТАННЯ.....</b>	<b>11</b>
1.1. Генетичні ресурси як складова біосфери.....	11
1.2. Поліморфізм ДНК, його природа та генетичні закономірності.....	14
1.3. Еволюційне значення генетичного поліморфізму.....	16
1.4. Генетичний моніторинг у системі збереження генетичних ресурсів тварин.....	18
1.5. Аналіз ембріогенезу сільськогосподарських тварин для розвитку біотехнології та збереження генофонду.....	22
1.6. Перспективи використання наукових розробок із генетики розвитку для біотехнологічної селекції в тваринництві.....	27
1.7. Дослідження ембріогенезу ссавців <i>in vitro</i> з використанням нанотехнологій.....	38
<b>2. ОСНОВНІ НАПРЯМИ ЗАСТОСУВАННЯ ГЕНЕТИЧНИХ МАРКЕРІВ У ТВАРИННИЦТВІ.....</b>	<b>42</b>
2.1. Селекція за допомогою маркерів.....	42
2.2. Експертиза генетичних аномалій.....	44
2.3. Експертиза походження племінних тварин.....	49
2.4. Аналіз генетичного різноманіття.....	51
<b>3. ДНК-МАРКЕРИ В МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ .....</b>	<b>54</b>
3.1. Мультилокусні та монолокусні ДНК-маркери.....	54
3.2. Міні- і мікросателітні маркери.....	57
3.3. Молекулярні маркери для дослідження мітохондріальної ДНК.....	61
<b>4. ЛОКУСИ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК ПРОДУКТИВНОСТІ У ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ .....</b>	<b>62</b>

4.1. Гени-кандидати локусів кількісних ознак.....	62
4.2. Гени білків молока.....	64
4.3. Гени загального і ліпідного метаболізму.....	66
4.4. Гени, асоційовані з показниками якості м'ясної продукції.....	68
<b>5. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ В УКРАЇНІ.....</b>	<b>70</b>
5.1. Генофонд молочної худоби за QTL-маркерами.....	70
<i>Генетична структура порід великої рогатої худоби за геном капа-казеїну.....</i>	<i>72</i>
<i>Генетична структура порід великої рогатої худоби за геном бета-лактоглобуліну.....</i>	<i>77</i>
<i>Генетична структура порід великої рогатої худоби за геном гіпофізарно-специфічного фактора транскрипції.....</i>	<i>81</i>
<i>Генетична структура порід великої рогатої худоби за геном гормону росту.....</i>	<i>83</i>
5.2. Генофонд м'ясної і комбінованої худоби за QTL-маркерами.....	86
<i>Генетична структура порід великої рогатої худоби за геном калпаїну.....</i>	<i>86</i>
<i>Генетична структура порід великої рогатої худоби за геном тиреоглобуліну.....</i>	<i>90</i>
5.3. Генетична структура порід великої рогатої худоби за міжмікросателітними маркерами.....	93
5.4. Генетична структура порід великої рогатої худоби за мікросателітними маркерами.....	97
5.5. Застосування молекулярних методів аналізу тварин для визначення статі та генотипування на ранніх етапах онтогенетичного розвитку.....	100
<b>6. ДОСЯГНЕННЯ І ПРОБЛЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЕМБРІОНІВ ССАВЦІВ <i>IN VITRO</i> ЯК МЕТОДУ ЕМБРІОЛОГІЧНОЇ ГЕНЕТИКИ.....</b>	<b>103</b>
6.1. Дозрівання ооцитів ссавців поза організмом та формування ембріонів <i>in vitro</i> .....	103
6.2. Гомологічне осіменіння яйцеклітин <i>in vitro</i> , як спосіб оцінювання запліднювальної здатності сперматозоїдів ссавців.....	109
<b>7. ГЕНЕТИЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ РАНЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН.....</b>	<b>113</b>

7.1. Порівняльний морфогенетичний аналіз дозрівання <i>in vitro</i> ооцитів корів і свиней.....	113
<i>Цитогенетична оцінка та морфологічна систематизація незрілих ооцит-кумулясних комплексів</i> .....	113
<i>Зміна хроматину ооцитів корів та свиней у період їхнього дозрівання <i>in vitro</i> при додаванні клітин гранульози</i> .....	118
<i>Вплив наноматеріалів на ефективність мейотичних перетворень ооцитів свиней</i> .....	121
7.2. Генетичні закономірності раннього ембріогенезу <i>in vitro</i> великої рогатої худоби та свиней .....	125
<i>Аналіз ембріонального розвитку поза організмом зародків великої рогатої худоби, сформованих з використанням епідидимальних сперматозоїдів</i> .....	125
<i>Вплив наноматеріалів на розвиток ембріонів свиней <i>in vitro</i></i> .....	127
<i>Удосконалення кріоконсервування епідидимальних сперматозоїдів кнурів при застосуванні наноматеріалів як метод збереження генотипу</i> .....	130
<i>Порівняльна оцінка методів вилучення ооцит-кумулясних комплексів свиней та їхній вплив на ембріогенез <i>in vitro</i></i> .....	133
<i>Вплив сироватки крові корів у стані охоти на дозрівання ооцитів свиней та генетичний контроль розвитку <i>in vitro</i> їхніх ембріонів</i> .....	137
<i>Порівняльна оцінка розвитку <i>in vitro</i> ембріонів великої рогатої худоби і свиней за результатами морфо- та цитогенетичного аналізу</i> .....	139
7.3. Аналіз ембріонального розвитку <i>in vitro</i> в умовах практичного застосування розроблених методів.....	142
<i>Схема оцінки <i>in vitro</i> запліднювальної здатності сперматозоїдів бугаїв за допомогою гомологічного тесту</i> .....	142
<i>Генетичний контроль запліднювальної здатності сперматозоїдів кнурів методом одержання ембріонів свиней поза організмом</i> .....	145
<i>Оцінювання запліднюваності свиноматок при застосуванні кріоконсервованих епідидимальних сперматозоїдів кнурів</i> .....	148
7.4. Технологічні аспекти трансплантації ембріонів у зв'язку з раннім ембріогенезом у великої рогатої худоби .....	151
<i>Вплив «прямого пересадження» ембріонів, одержаних <i>in vivo</i>, на тільність телиць-реципієнтів</i> .....	151

---

<i>Морфо- та цитогенетичні аспекти ембріогенезу під час ембріотрансплантації</i> .....	155
<i>Надивидке заморожування ембріонів великої рогатої худоби та їхнє морфо- і цитогенетичне оцінювання</i> .....	158
<b>8. МЕТОДОЛОГІЯ ВИКОРИСТАННЯ ГЕНЕТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ РАНЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ <i>IN VITRO</i> В ПЛЕМІННОМУ ТВАРИННИЦТВІ УКРАЇНИ</b> .....	163
<b>9. МЕТОДОЛОГІЯ І ПРИНЦИПИ ОРГАНІЗАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНО-ПЛЕМІННОЇ РОБОТИ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ МАРКЕРІВ</b> .....	171
<b>10. ПРИНЦИПИ ЗАСТОСУВАННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ ТА БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ У СИСТЕМІ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ ТВАРИН</b> .....	176
10.1. Аналіз поліморфізму ДНК у системі збереження біорізноманіття в тваринництві.....	177
10.2. Генетико-біотехнологічні методи у системі збереження генофонду тварин.....	179
<b>ЛІТЕРАТУРА</b> .....	191

---

## ПЕРЕДМОВА

В останні роки тваринництво України переживає кризу зменшення поголів'я сільськогосподарських тварин і, як наслідок, зниження обсягів виробництва. Інтенсивний розвиток сільського господарства в минулому столітті, застосування великомасштабної селекції в тваринництві, яка базувалася на методах оцінювання генотипу за якістю нащадків, ефективній системі відтворення та інформаційного забезпечення селекційної роботи, дали можливість досягти суттєвих результатів. Використання схрещування різних місцевих популяцій сільськогосподарських тварин з імпортованими з-за кордону сприяло в надзвичайно короткий термін підвищити генетичний потенціал продуктивності великих популяцій тварин, а широкомасштабне ведення штучного осіменіння створило умови для програмованої передачі господарськи корисних генів від батьків до нащадків. Однак наразі внаслідок проведення інтенсивної селекції і породоутворення накопичений резерв мінливості зменшується, що не може не впливати на стратегічні можливості селекційної роботи [28, 256].

Реформування сільського господарства в сучасних ринкових умовах потребує розробки та впровадження нових методів удосконалення продуктивних якостей тварин, що безпосередньо пов'язано з перспективою розвитку вітчизняної селекції, спрямованої на підвищення продуктивності й рентабельності сільськогосподарського виробництва та одержання високоякісної конкурентоспроможної продукції.

Сучасні теоретичні й методологічні засади селекції ґрунтуються на досягненнях генетики і молекулярної біології в розкритті субстратних, енергетичних та інформаційних закономірностей селекційного процесу. Головні завдання цих досліджень полягають у розшифруванні глибинних механізмів формування та виявлення селекційних ознак, функціонування генетичного апарату в онтогенезі.

Кількісні та якісні показники сільськогосподарських тварин, такі як вихід і склад молока та м'яса, плідючість, висока резистентність або низька чутливість до інфекцій у більшості своїй є полігенними ознаками,



результатом взаємодії багатьох генів, а чинники навколишнього середовища певною мірою модифікують фенотипічний прояв даної ознаки [241].

Підвищення генетичного потенціалу великої рогатої худоби переважно визначається наявністю інформації щодо генетичної природи ознак продуктивності. Можливість цілеспрямованого створення високопродуктивних стад тварин залежить від інформації про гени, які контролюють ці ознаки.

У зв'язку з цим особливої уваги заслуговують методи генетичних досліджень, послідовне застосування яких сприяє створенню системи генетичного моніторингу. В цій системі вагоме місце посідає тестування тварин за комплексом генетичних тестів, серед яких основну роль відіграють генетичні маркери.

Проблема збереження генофонду порід і популяцій, актуальна в тваринництві України, є наслідком швидкої зміни породного складу. В першу чергу це призводить до звуження природної різноманітності тварин і втрати генів та генних комплексів, притаманних локальним породам. Дослідження генетичної структури порід за маркерами дає об'єктивну інформацію про генетичну ситуацію в генофондових стадах. В Україні постає завдання визначення особливостей локальних та малочисельних порід і більш поглибленого аналізу їхнього генофонду із залученням широкого спектра генетичних тестів. Зокрема, необхідна комплексна характеристика поголів'я тварин, від яких здійснюють подальше відтворення стад, отримують генетичний матеріал для кріоконсервування і довготривалого зберігання.

Останнім часом відбувається швидкий розвиток біотехнологій у тваринництві, які забезпечують прискорене розмноження цінних генотипів. Це штучне осіменіння, індукція суперовуляції у корів і телиць, нехірургічна трансплантація ембріонів реципієнтам у скотарстві, кріоконсервування сперматозоїдів та ембріонів великої рогатої худоби, овець та інших видів тварин. Нині розроблено наукову базу, отримано позитивні результати з одержання ембріонів ссавців *in vitro*, клонування зародків, одержання трансгенних тварин з певними властивостями та ін. [1,208,405].

Важливий вклад у розуміння, дослідження та розв'язання багатьох фундаментальних проблем становлення й індивідуального розвитку організмів, отриманих біотехнологічними методами, вносять ембріологічна генетика, клітинна біологія та експериментальна ембріологія.

Суттєве значення в цьому відношенні має вивчення особливостей раннього доімплантаційного розвитку ссавців, зокрема накопичення генопродуктів у результаті транскрипції генів материнського похо-

дження, активації геному зародка, взаємодії ядра і цитоплазми, а також умов розвитку зародків *in vitro* та *in vivo* [187].

Необхідне широке використання досягнень сучасної біотехнології для практичної розробки методів і схем інтенсивної селекції з метою ефективного впровадження біотехнологічної селекції, формування якої розпочалося в Україні в кінці минулого століття [19, 20]. Традиційні, нові та новітні біотехнологічні напрями зорієнтовано на одержання особин з бажаним фенотипом за використання нетрадиційних способів.

Генетика розвитку, яка є широкою, багатоплановою галуззю науки, поєднує в собі розробки молекулярної біології, експериментальної ембріології, цитогенетики. Цитогенетичні, молекулярно-біологічні аспекти оогенезу, сперматогенезу і раннього ембріогенезу ссавців, без яких неможливе вивчення контролюючих механізмів розвитку, розпочали інтенсивно розвиватися із 70-х років ХХ ст. [67].

Поглиблені дослідження з ембріологічної генетики створили передумови для запровадження сучасних біотехнологічних методів у практику відтворення тварин. З метою підвищення й ефективного використання їхнього генетичного потенціалу необхідно вивчати складний процес індивідуального розвитку організму від запліднення яйцеклітини, розвитку ембріона і протягом життя, який проходить відповідно до успадкованого генотипу [28, 31, 103, 105, 109, 122, 222].

Морфологічний та молекулярно-генетичний аналіз реалізації генетичної інформації в ранньому ембріогенезі *in vitro* є ефективним методом вирішення багатьох питань генетики розвитку [156]. Зокрема, набуває важливого значення вивчення закономірностей перетворень хроматину *in vitro* в мейозі для реалізації генетичної інформації в процесі ембріогенезу *in vitro*. Привертають увагу технологічні аспекти ембріологічної генетики сільськогосподарських тварин для контролю запліднювальної здатності сперматозоїдів плідників під час формування ембріонів *in vitro*.

Вивчення мейотичних і мітотичних перетворень хроматину гамет та ембріонів сільськогосподарських тварин ґрунтується на цитогенетичних методах. Комплексний морфогенетичний аналіз забезпечує оцінювання біологічної повноцінності розвитку *in vitro* ембріонів і дає змогу встановити закономірності генетичних процесів у ранньому ембріогенезі.

Вивчення хромосом під час гаметогенезу, на останніх стадіях раннього ембріогенезу є одним із ефективних підходів до пізнання механізмів реалізації генетичної інформації індивідуального розвитку. Існують проблеми підвищення життєздатності зародків після маніпулювання з ними поза організмом.

