

Lietuvoje veisiamų pieninių galvijų veislių mikrosatelitų įvairovės tyrimas

Natalja Makštutienė,

Kristina Liucvaikienė,

Lina Baltrėnaitė,

Kristina Morkūnienė,

Paulius Morkūnas,

Alina Ramanauskienė,

Ilona Miceikienė

*Lietuvos sveikatos mokslų universiteto
Veterinarijos akademija,
Tilžės g. 18 LT-47181, Kaunas
El. paštas: genetikalab@lva.lt*

Darbo tikslas – ištirti Lietuvoje veisiamų Danijos žalujų, Švedijos žalmargių, Vokietijos juodmargių ir Vokietijos žalujų pieninių galvijų veislių mikrosatelitų įvairovę. Tirtuose TGLA 227, BM 2113, TGLA 53, ETH 10, SPS 115, TGLA 126, TGLA 122, INRA 23, ETH 3, ETH 225, BM 1824 galvijų mikrosatelitiniuose lokusuose buvo aptikta 145 skirtingi aleliai: mažiausias skirtingų alelių skaičius buvo aptiktas ETH 10 lokuse, didžiausias – ETH 3 lokuse; 32 dominuojantys aleliai: mažiausias skaičius rastas ETH 10 lokuse, didžiausias – TGLA 227 lokuse; 82 skirtingi reti aleliai: didžiausias retų alelių kiekis rastas TGLA 122 lokuse; mažiausias – TGLA 126 lokuse; 28 unikalūs aleliai: didžiausias unikalų alelių rasta ETH 225 ir TGLA 53 lokusuose, mažiausiai – TGLA 126 ir ETH 10 lokusuose. Ištyrus vienuolikos mikrosatelitų alelių pasiskirstymą tarp skirtingų galvijų veislių, nustatyta, kad faktinis aptiktų skirtingų alelių skaičius svyravo nuo 42 Vokiečių žalujų iki 105 Danijos žalujų galvijų veislėse. Daugiausia dominuojančių alelių rasta Švedijos žalmargių, mažiausiai – Vokietijos juodmargių galvijų veislėse. Daugiausia retų ir unikalų alelių rasta Danijos žalujų, mažiausiai – Vokietijos žalujų galvijų veislėse. Visi 11 mikrosatelitų tirtose veislėse rasti polimorfiški, todėl tinkami genetinės įvairovės vertinimui.

Raktažodžiai: polimorfizmas, mikrosatelitai, aleliai, galvijai

ĮVADAS

Galvijų veislių visuma yra pripažįstama kaip svarbi viso pasaulio gyvūnų biologinės įvairovės dalis, kadangi genai bei skirtingos genų kombinacijos, kurias nešioja savyje tiek vietinių, tiek ir modernių veislių galvijai, gali būti naudingi ateities gyvulininkystei bei žmonių gerovei. Viena iš svarbiausių biologinės įvairovės dalių yra genetinė įvairovė (Malevičiūtė, 2003). Žemės ūkio gyvūnų rūšių ir veislių genetinė įvairovė sumažėjo dėl įvairių veiksnių, pvz., prijaukinimo, riboto efektyvaus populiacijos dydžio, pasikeitusių gamtinių sąlygų, dirbtinės atrankos ir kt. Genetinės įvairovės monitoringas yra būtina bioįvairovės išsaugojimo programų sudedamoji dalis. Prie tinkamiausių būdų DNR įvairovei įvertinti būtų priskiriami mikrosatelitų, sekvenavimo, restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmą, atsitiktinai amplifikuotų ir konformacinių polimorfizmą metodai.

Galvijų genetinės įvairovės tyrimams plačiausiai yra naudojami mikrosatelitiniai žymenys. Mikrosatelitiniai žymenys – tai trumpi, tandemiškai besikartojančių 1–6 nukleotidų DNR fragmentai. Galvijų genome yra tūkstančiai mikrosatelitinių lokusų, lemiančių skirtingumą tarp individų. Viduveislinės ir tarpveislinės genetinės įvairovės tyrimams mikrosatelitiniai žymenys yra palankiausi, kadangi jie yra nesusiję su jokiais produktyvumo požymiais. Formuojantis veislėms mikrosatelitai nebuvo vertinami kaip selekcijos kriterijus, todėl juos veikė dažniausiai tik natūralūs veiksniai. Mikrosatelitai yra plačiai išsidėstę genome, lokalizuoti įvairiose chromosomose, paveldimi kodominuotai ir nesukibę vienas su kitu, pasižymi dideliu polimorfiškumu, todėl labai informatyvūs. Mikrosatelitai aptinkami ir jų polimorfizmas stebimas PGR (polimerazinės grandinės reakcijos) pagalba naudojant atitinkamus pradmenis ir frakcionuojant juos elektroforezės būdu poliakrilamidiniame

gelyje arba identifikuojant lazeriu (Mullis et al., 1987; Bruford et al., 1993; Eding et al., 1999).

Intensyvi gyvulininkystė ir naujų žemės ūkio metodų taikymas joje lėmė, kad tam tikros rūšies (galvijų, kiaulių, paukščių) veisimas turėjo įtakos kelių, labai aukšto produktyvumo specializuotų veislių paplitimui, o šios tapo vienodos genetiniu požiūriu. Toks vienpusis požiūris į veisimą reikštų, kad visi gyvuliai, turintys genus, neturinčios didelės įtakos produkcijos gamybai, yra pasmerkti išnykti, o tai reiškia, kad šie požymiai ateityje negalės būti atkurti. Tačiau mes nežinome visuomenės ateities poreikių. Tai aktualu ir šiandien, kai vis didesnis dėmesys yra skiriamas specifinių žemės ūkio produktų gamybai bei žemės ūkio produkcijos įvairovės didėjimui, ekologiniam ūkininkavimui bei gyvulių sveikatingumui. Labai svarbu yra išsaugoti kuo didesnę naminių gyvūnų įvairovę tiek veislės viduje, tiek tarp veislių, o tai pasiekti galime tik žinodami faktinę genetinę įvairovės būklę.

Mikrosatelitai žemės ūkio gyvulių genetinei įvairovei įvertinti buvo panaudoti daugelyje tyrimų galvijams, ožkoms, avims, arkliams, kiaulėms ir kitiems žemės ūkio gyvūnams bei paukščiams (Moore et al., 1994; Hanslik et al., 2000; Malevičiūtė, 2003; Grigaliūnaitė et al., 2003; Tapio et al., 2003; Tapio et al., 2005; Tapio et al., 2006). Iki šiol Lietuvoje mikrosatelitų tyrimai buvo atlikti keturiose galvijų veislėse – Lietuvos juodmargių, Lietuvos žalujų, Lietuvos šėmų bei Lietuvos baltnugarių (Tapio et al., 2006) bei dviejose avių veislėse – Lietuvos juodgalvių ir Lietuvos šurkščiavilnių (Grigaliūnaitė et al., 2003). Šio darbo tikslas buvo ištirti Lietuvoje veisiamų Danijos žalujų, Švedijos žalmargių, Vokietijos juodmargių ir Vokietijos žalujų pieninių galvijų veislių mikrosatelitų įvairovę.

METODAI IR SĄLYGOS

Mikrosatelitų tyrimai atlikti 120 galvijų grupėje, kurie priklausė Danijos žalujų (DŽ), Švedijos žalmargių (ŠŽ), Vokietijos juodmargių (VJ), Vokietijos žalujų (VŽ) veislėms. Tyrimams atrinkta po 30 kiekvienos veislės abiejų lyčių negiminingų individų. Mėginiai tyrimams imti iš galvijų, laikomų UAB Atžalynas, Bernatonių ŽŪB, LSMU praktinio mokymo ir bandymų centro bei Biologinių sistemų ir genetinio tyrimo instituto DNR banko. Plaukai (išpešant juos su svogūnėliais) mikrosatelitų tyrimams sudėti į vienkartinius maišelius. Ty-

rimai atlikti Lietuvos sveikatos mokslų universiteto K. Janušausko gyvūnų genetikos laboratorijoje. DNR išskirta iš plaukų su DTT (1M), „Chelex 100“, „Protenase K“ (20 mg/ml) reagentais (Paulauskas ir kt., 2002). PGR reakcija buvo atlikta 15 µl gautinio tūrio panaudojant šiuos reagentus: ddH₂O, StockMarks PGR buferis, 200 µM dNTP, 1,5 µM MgCl₂, 0,6 v.v. AmpliTaqGold DNR polimerazės, mikrosatelitų pradmenų mišinio (Applied Biosystems), 100 ng tiriamų galvijų DNR. Informacija apie naudotus 11 mikrosatelitų pateikta 1 lentelėje.

PGR atlikta termocikleryje (Applied Biosystem; GeneAmp PCR System 2700) pagal programą: 95 °C 15 min.; 94 °C 45 sek., 61 °C 45 sek.; 72 °C 60 sek. 35 ciklai; 4 °C. PGR produktas praskiestas ddH₂O. Į mėgintuvėlį pilta 1,0 µl praskiesto produkto, 11,5 µl DI formamido (Applied Biosystems) ir 0,5 µl GS Rox 500 dydžio standarto (Applied Biosystems). Gauti PGR produktai analizuoti ABI PRISM 310 analizatoriuje. Genotipavimas atliktas 310 ABI analizatoriumi Genotyper programa, kuri identifikuoja mikrosatelitų alelių dydžius po jų užfiksavimo lazeriu kapiliare POP4 genotipavimo gelyje. Tikslūs fragmentų dydžiai buvo nustatyti pagal naudojamų mikrosatelitų tarptautinius dydžių standartus bei referentinių (kontrolinių) gyvulių alelių dydžius. Moksliniai tyrimai atlikti laikantis 1997-11-06 Lietuvos Respublikos gyvūnų globos, laikymo ir naudojimo įstatymo Nr. 8-500 („Valstybės žinios“, 1997-11-28, Nr. 108) bei poįstatyminių aktų – LR valstybinės veterinarinės tarnybos įsakymų „Dėl laboratorinių gyvūnų veisimo, dauginimo, priežiūros ir transportavimo veterinarijos reikalavimų“ (1998-12-31, Nr. 4-361) ir „Dėl laboratorinių gyvūnų naudojimo moksliniams bandymams“ (1999-01-18, Nr. 4-16).

Statistinė analizė atlikta statistiniu R paketu (<http://www.r-project.org/>).

REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Tyrimai atlikti 120 galvijų grupėje, kurie priklauso 4 veislėms. Mūsų vertinamuose vienuolikoje mikrosatelitinių lokusų buvo aptikta 145 skirtingi aleliai. Faktiškai nustatytų alelių skaičiaus pasiskirstymo tarp veislių ir tarp lokusų duomenys pateikiami 2 lentelėje. Mažiausias skirtingų alelių skaičius buvo aptiktas ETH 10 lokuse (7), didžiausias – ETH 3 lokuse (22). Ištirtų keturių galvijų veislių faktinis aptiktų skirtingų alelių skaičius (visuose 11 lokusų)

1 lentelė. Galvijų mikrosatelitai, lokalizacija bei pradmenų sekos

Table 1. Cattle microsatellites, localization and sequences of primers

Mikrosatelitas <i>Microsatellite</i>	Chromosoma <i>Chromosome</i>	Pradinės sekos (5'-3') <i>Original sequences (5'-3')</i>
BM 1824 (178–190 bp)	1	P1:GAG CAA GGT GTT TTT CCA ATC P2:CAT TCT CCA ACT GCT TCC TTG
BM 2113 (125–143 bp)	2	P1:GCT GCC TTC TAC CAA ATA CCC P2:CTT CCT GAG AGA AGC AAC ACC
SPS 115 (240–262 bp)	15	P1:AAA GTG ACA CAA CAG CTT CTC P2:AAC GAG TGT CCT AGT TTG GCT
ETH 3 (117–129 bp)	19	P1:GAA CCT GCC TCT CCT GCA TTG P2:ACT CTG CCT GTG GCC AAG TAG
ETH 10 (210–226 bp)	5	P1:GTT CAG GAC TGG CCC TGC TAA P2:CCT CCA GCC CAC TTT CTC TTC
ETH 225 (140–156 bp)	9	P1:GAT CAC CTT GCC ACT ATT TCC P2:ACA TGA CAG CCA GCT GCT ACT
TGLA 122 (130–164 bp)	21	P1:CCC TCC TCC AGG TAA ATC AGC P2:AAT CAC ATG GCA AAT AAG TAC
TGLA 126 (109–127 bp)	20	P1:CTA ATT TAG AAT GAG AGA GGC P2:TTG GTC TCT ATT CTC TGA ATA
TGLA 227 (78–104 bp)	18	P1:CGA ATT CCA AAT CTG TTA ATT P2:ACA GAC AGA AAC TCA ATG AAA
TGLA 53 (144–190 bp)	16	P1:GCT TTC AGA AAT AGT TTG CAT P2:ATC TTC ACA TGA TAT TAC AGC
INRA 23 (197–223 bp)	3	P1:GAG TAG AGC TAC AAG ATA AAC P2:ATC TTC ACA TGA TAT TAC AGC

svyravo nuo 42 (VŽ) iki 105 (DŽ). Didžiausias skirtingų alelių skaičius (15) buvo nustatytas TGLA 227 lokuse – Švedijos žalmargių galvijų veislė. Mažiausias skirtingų alelių skaičius (2) rastas INRA 23 lokuse – Vokiečių žaliųjų galvijų veislė (2 lentelė).

Dominuojančių alelių dydžiai įvairavo tiek lokusų, tiek veislių atžvilgiu. 11 iširtų mikrosatelitinių lokusų iš viso buvo nustatyti 32 skirtingi dominuojantys aleliai. Daugiausia dominuojančių alelių rasta TGLA 227 lokuse (9), homogeniškausias

2 lentelė. Faktiškai aptiktų skirtingų alelių skaičius ir jų pasiskirstymas kiekviename lokuse bei kiekvienoje veislėje

Table 2. Practically detected number of different alleles and their distribution in each locus and in each breed

Mikrosatelitas <i>Microsatellite</i>	DŽ alelių skaičius <i>Number of alleles</i>	ŠŽ alelių skaičius <i>Number of alleles</i>	VJ alelių skaičius <i>Number of al- leles</i>	VŽ alelių skaičius <i>Number of al- leles</i>	Skirtingų alelių skaičius <i>Number of different alleles</i>
TGLA 227	10	15	9	5	17
BM 2113	10	9	6	3	12
TGLA 53	12	6	7	4	16
ETH 10	7	5	5	3	7
SPS 115	8	5	5	3	9
TGLA 126	7	8	5	7	8
TGLA 122	10	7	11	3	12
INRA 23	10	9	8	2	18
ETH 3	10	10	8	3	22
ETH 225	14	10	7	4	16
BM 1824	7	8	6	5	9
Iš viso / Overall	105	92	77	42	145

buvo ETH 10 lokusas, kuriame rastas tik vienas 215 bp alelis. Vertinant skirtingų veislių mikrosatelitų įvairovę nustatyta, kad daugiausia dominuojančių alelių rasta Švedijos žalmargių (15), mažiausiai – Vokietijos juodmargių galvijų veislėse (11). Kai kurių veislių skirtinguose lokusuose buvo aptikta po kelis dominuojančius alelius. Galime stebėti tendenciją, kad tam tikri mikrosatelitų aleliai yra būdingi žalųjų arba juodmargių veislėms, pavyzdžiui, BM 1824 179 bp alelis, ETH 3 113 bp alelis, TGLA 53 157 bp alelis būdingi žalųjų veislėms (3 lentelė), o ETH 3 117 bp alelis būdingas pieninių galvijų veislėms (3 lentelė; Malevičiūtė, 2003).

Reti aleliai yra tokie, kurie sutinkami populiacijoje mažesniu nei 0,05 dažniu. Iš tirtų keturių galvijų veislių retus alelius radome tik trijose veislėse – Danijos žalųjų, Švedijos žalųjų ir Vokietijos juodmargių pieninių galvijų. 11 mikrosatelitinių lokusų rasti 82 skirtingi reti aleliai. Didžiausias retų alelių kiekis rastas TGLA 122 lokuse (12), mažiausias – TGLA 126 lokuse (3). Įvertinus retų alelių pasiskirstymą skirtingose veislėse, nustatyta, kad daugiausia retų alelių yra tarp Danijos žalųjų galvijų (35), mažiausia – Vokietijos juodmargių galvijų veislių (20) (4 lentelė).

3 lentelė. Aptikti dominuojantys aleliai tirtuose mikrosatelituose bei veislėse

Table 3. Detected dominant alleles in analysed microsatellites and breeds

Mikrosatelitas <i>Microsatellite</i>	DŽ, alelio dydis bp <i>Size of allele bp</i>	ŠŽ alelio dydis bp <i>Size of allele bp</i>	VJ alelio dydis bp <i>Size of allele bp</i>	VŽ alelio dydis bp <i>Size of allele bp</i>	Skirtingų dominuojančių alelių skaičius <i>Number of different dominant alleles</i>
TGLA 227	83	82, 86, 89, 94, 97	99	75, 84, 89	9
BM 2113	136	123	132	130	4
TGLA 53	157	157	155	157	2
ETH 10	215	215	215	215	1
SPS 115	250	242	242	242	2
TGLA 126	117, 125	117	117	117	2
TGLA 122	140, 150	150	140	140	2
INRA 23	205, 211	211	203	211	3
ETH 3	113	113	121	113	2
ETH 225	147	137	141	141	3
BM 1824	179	179	189	179	2
Iš viso / Overall	14	15	11	13	32

1 lentelė. Aptikti reti aleliai tirtuose mikrosatelituose bei veislėse

Table 4. Detected rare alleles in analysed microsatellites and breeds

Mikrosatelitas <i>Microsatellite</i>	DŽ alelio dydis bp <i>Size of allele bp</i>	ŠŽ alelio dydis bp <i>Size of allele bp</i>	VJ alelio dydis bp <i>Size of allele bp</i>	Skirtingų retų alelių skaičius <i>Number of different rare alleles</i>
TGLA 227	87; 101	77; 79; 80; 81; 93; 95; 99	81; 85	10
BM 2113	120; 133; 140	118; 123; 135	130	7
TGLA 53	149; 154; 162; 167; 173	159; 163; 165	162	8
ETH 10	209; 223	219		3
SPS 115	251; 255	236; 254	248	5
TGLA 126	123	111	113	3
TGLA 122	142; 152; 154; 156; 158; 166	148; 156; 158; 160	141; 148; 150; 161; 174	12
INRA 23	197; 199; 202; 206; 213	197; 198; 203; 217	197; 209	9
ETH 3	109; 119; 121; 123	105; 123; 137	111; 117; 123	8
ETH 225	133; 140; 143; 150; 153	134; 145; 155	137; 147	10
BM 1824		180; 184	187; 191	4
Iš viso / Overall	35	33	20	82

Kitų mokslininkų, kurie tyrė mikrosatelitus dešimtyje Baltijos šalių vietinių galvijų veislėse, duomenimis, rasta retų alelių svyravimas nuo 66 Lietuvos Baltnugarių galvijų iki 48 Lenkijos juodmargių galvijų veislėse. Didelis aptiktų retų alelių skaičius visose tirtose veislėse galėtų būti dėl genų dreifo ar migracijos iš populiacijos į populiaciją (Malevičiūtė, 2003; Grigaliūnaitė et al., 2004; Tapio et al., 2006).

Paprastai didelėse populiacijose reti aleliai atsiranda dėl atsitiktinių mutacijų ir paplinta jose heterozigotiniu pavidalu. Mažose populiacijose reti aleliai paplinta dėl galimo poravimosi tarp giminingų individų arba kryžminant tokių veislių galvijus su kitomis veislėmis, kurios atsitiktinai perduoda tokius genus. Dar viena retų alelių atsiradimo priežastis – genetinės įvairovės sumažėjimas, dėl ko bėgant laikui populiacijoje genai ima nykti ir aptinkami labai mažu dažniu. Toks reiškinys pastebimas, kai per trumpą laiką labai sumažėja efektyvus populiacijos dydis, gyvuliai yra laikomi itin skirtingose vietose bei likę individai

yra poruojami su kitų veislių individais. Vėliau tokie gyvuliai ar jų palikuonys, nors ir laikomi vienoje bandoje, yra fenotipiškai panašūs, tačiau savo genotipe turi labai skirtingus genus (Malevičiūtė, 2003). Didelis aptiktų retų alelių skaičius visose veislėse galėtų būti genų dreifo ar migracijos iš populiacijos į populiaciją rezultatas. Palyginus mūsų gautus duomenis su literatūroje aptinkamais duomenimis, gauti panašūs tyrimų rezultatai (Bredbacka et al., 1998; Martin-Burriel et al., 1999; Edwards et al., 2000; Grigaliūnaitė et al., 2004).

Unikalūs arba specifiniai tik vienai veislei aleliai buvo rasti visose tirtose galvijų veislėse, tik labai mažu dažniu. Unikalių alelių dažnis skirtingose veislėse svyravo nuo 0,02 iki 0,24. Iš viso keturiose tirtose veislėse rasti 28 unikalūs aleliai. Daugiausia unikalių alelių buvo aptikta Danijos žaliųjų galvijų veislėje (10). Mažiausia unikalių alelių rasta Vokietijos žaliųjų galvijų veislėje – vienas 147 bazių porų alelis TGLA 53 lokuse 0,17 dažniu. Kitas (0,24 dažniu) rastas 158 bazių porų alelis taip pat TGLA 53 lokuse (5 lentelė).

5 lentelė. Aptikti unikalūs aleliai tirtuose mikrosatelituose bei veislėse

Table 5. Detected unique alleles in analysed microsatellites and breeds

Mikrosatelitas <i>Microsatellite</i>	DŽ alelio dydis bp dažnis <i>Size of allele bp frequency</i>	ŠŽ alelio dydis bp dažnis <i>Size of allele bp frequency</i>	VJ alelio dydis bp dažnis <i>Size of allele bp frequency</i>	VŽ alelio dydis bp dažnis <i>Size of allele bp frequency</i>	Skirtingų unikalių alelių skaičius <i>Number of different unique alleles</i>
TGLA 227	101 (0.03)	74 (0.07)			3
		82 (0.12)			
BM 2113	120 (0.03)	118 (0.03)			3
	140 (0.03)				
TGLA 53	153 (0.06)		158 (0.24)	147 (0.17)	4
	173 (0.02)				
ETH 10	223 (0.02)				1
SPS 115	255 (0.03)	236 (0.06)			2
TGLA 126		111 (0.03)			1
TGLA 122			141 (0.04)		3
			174 (0.04)		
			184 (0.09)		
INRA 23		212 (0.12)			2
		217 (0.04)			
ETH 3	109 (0.02)	122 (0.07)			3
		124 (0.07)			
ETH 225	153 (0.02)	134 (0.04)			4
	159 (0.05)	138 (0.08)			
BM 1824		184 (0.04)			2
		185 (0.07)			
Iš viso / Overall	10	13	4	1	28

Visose veislėse aptikti unikalūs aleliai leidžia daryti prielaidą, jog šie aleliai galėjo išsilaikyti kaip adaptyviniai genai, kurie ateityje gali būti reikšmingai panaudojami gyvulininkystėje. Kadangi unikalūs aleliai (išskyrus kelis) veislėse buvo atrasti labai mažu dažniu, galima spėti, jog šie aleliai buvo paplitę heterozigotinės būklės ir selekcijos nebuvo eliminuoti iš veislių. Jeigu unikalūs aleliai būtų aptikti dideliu dažniu, galėtų būti panaudoti kaip veislę charakterizuojantis žymuo.

Mikrosatelitų tyrimus Danijos žaliųjų, Švedijos žalmargių, Vokietijos juodmargių, Vokietijos žaliųjų galvijų veislių populiacijose, veisiamose skirtingose šalyse, atliko mokslininkai J. Citek ir V. Rehout (2001), Čekijoje ištyrė 13 mikrosatelitų 6 veislėse. J. Lubieniecka (2001), Lenkijoje ištyrė 26 mikrosatelitų įvairovę 9 veislėse, G. Grzybowski ir B. Prusak (2004), ištyrė 26 mikrosatelitus 9 Europos galvijų veislėse, K. Moazami-Goudarzi su mokslininkų grupe (1997) ištyrė 10 galvijų veislių 17 mikrosatelitų polimorfizmą, J. Citek su mokslininkų grupe (2006) palygino Čekijoje, Lenkijoje ir Vokietijoje veisiamų žaliųjų galvijų genetinę įvairovę pagal 13 mikrosatelitų. Mokslininkai M. H. Li ir J. Kantanen (2009), išanalizavę mikrosatelitų įvairovę 48 galvijų veislėse, patikslino veislių klasifikaciją.

DNR sekos polimorfizmo tyrimai suteikia priemonių, padedančių nuspręsti, į kurias naminių gyvulių populiacijas reiktų orientuotis siekiant jas išsaugoti bei leidžia identifikuoti atskiras DNR sritys, lemiančias neįprastus produktyvumo bei sveikatingumo požymius. Tokią informaciją bus galima tiesiogiai panaudoti būsimose veislių gerinimo programose. Šie tyrimai bus reikšmingi ir ateityje gerinant naminių gyvulių su specifiniais požymiais veisles.

IŠVADOS

Tirtuose TGLA 227, BM 2113, TGLA 53, ETH 10, SPS 115, TGLA 126, TGLA 122, INRA 23, ETH 3, ETH 225, BM 1824 galvijų mikrosatelitiniuose lokusuose buvo aptikta 145 skirtingi aleliai: mažiausias skirtingų alelių skaičius buvo aptiktas ETH 10 lokuse, didžiausias – ETH 3 lokuse; 32 dominuojantys aleliai: mažiausias skaičius rastas ETH 10 lokuse, didžiausias – TGLA 227 lokuse; 82 reti aleliai: didžiausias retų alelių kiekis rastas TGLA 122 lokuse; mažiausias – TGLA 126 loku-

se; 28 unikalūs aleliai: didžiausias unikalių alelių rasta ETH 225 ir TGLA 53 lokusuose; mažiausias – TGLA 126 ir ETH 10 lokusuose.

Ištyrus vienuolikos mikrosatelitų alelių pasiskirstymą atskirose galvijų veislėse, nustatyta, kad faktinis aptiktų skirtingų alelių skaičius svyravo nuo 42 Vokiečių žaliųjų iki 105 Danijos žaliųjų galvijų veislėje; daugiausia dominuojančių alelių rasta Švedijos žalmargių galvijų, mažiausiai – Vokietijos juodmargių galvijų veislėje; daugiausia retų ir unikalių alelių rasta Danijos žaliųjų galvijų, mažiausiai – Vokietijos žaliųjų galvijų veislėje.

Tyrimų rezultatai suteikia informaciją apie veislių genetinę įvairovę, kuri yra svarbi planuojant ir prognozuojant veislės panaudojimą.

Gauta 2013 01 29

Priimta 2013 04 24

LITERATŪRA

1. Bredbacka P., Koskinen M. T. 1998. Polymorphism of microsatellite loci used in parentage testing in Finnish Ayrshire and Holstein populations. *Animal Genetics*. Vol. 29. P. 10–23.
2. Bruford M. W., Wayne R. K. 1993. Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinion in Genetics and Development*. Vol. 3. P. 939–934.
3. Citek J., Panicke L., Rehout V., Prochazkova H. 2006. Study of genetic distances between cattle breeds of Central Europe. *Czech Journal of Animal Science*. Vol. 51(10). P. 429–436.
4. Citek J., Rehout V. 2001. Genetic diversity in cattle evaluated by microsatellites and protein markers. *Czech Journal of Animal Science*. Vol. 46. P. 393–400.
5. Eding J. H., Laval G. 1999. Measuring genetic uniqueness in livestock. In: *Genebanks and the Conservation of Farm Animal Genetic Resources*. P. 35–58.
6. Edwards C. J., Dolf G., Looftus R. T., Bradley D. G. 2000. Relationship between the endangered Pustertaler-Sprinzen and three related European cattle breeds as analysed with 20 microsatellite loci. *Animal Genetics*. Vol. 31. P. 329–332.
7. Grigaliunaite I., Maleviciute J., Varv S., Benewitz J., Miceikiene I., Grislis Z., Fimland F., Meuwissen T. H. E., Olsaker I., Viinalass H., Vilkki J., Kantanen J. 2004. Microsatellite analysis for making conservation priorities among North European cattle breeds. *Proceedings of the Animal Breeding in the Baltics Conference*. Tartu. P. 14–17.
8. Grigaliūnaitė I., Tapio M., Viinalass H., Grislis Z., Kantanen J., Miceikienė I. 2003. Microsatellite

- variation in the Baltic sheep breeds. *Veterinarija ir zootechnika*. No. 21(43). P. 66–73.
9. Grzybowski G., Prusak B. 2004. Genetic variation in nine European cattle breeds as determined on the basis of microsatellite markers. *Animal Science Papers and Reports*. Vol. 22(1). P. 37–56.
 10. Hanslik S., Harr B., Schlötterer C. 2000. Microsatellite analysis reveals substantial genetic differentiation between contemporary New World and Old World Holstein Friesian populations. *Animal Genetics*. Vol. 31(1). P. 31–8.
 11. Li M. H., Kantanen J. 2009. Genetic structure of Eurasian cattle (*Bos Taurus*) based on microsatellites: clarification for their breed classification. *Animal Genetics*. Vol. 41. P. 150–158.
 12. Lubieniecka J. 2001. *Genetic Structure of Selected Cattle Breeds Bred in Poland as Estimated Based on DNA Microsatellites Loci*. Thesis. Institute of Genetics and Animal Breeding, Polish Academy of Sciences.
 13. Malevičiūtė J. 2003. Pabaltijo galvijų veislių genetinės įvairovės ir tarpusavio ryšių įvertinimas. *Daktaro disertacija*. 91 p.
 14. Martin-Burriel I., Garcia-Muro E., Zaragoza P. 1999. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites. *Animal Genetics*. Vol. 30. P. 177–182.
 15. Moazami-Goudarzki K., Laloe D., Furet J. P., Grosclaude F. 1997. Analysis of genetic relationship between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*. Vol. 28. P. 338–345.
 16. Moore S., Byrne K. 1994. Characterisation of 65 bovine microsatellites. *Mammalian Genome*. Vol. 5(2). P. 84–90.
 17. Mullis K. B., Faloona F. 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*. Vol. 21. P. 1–68.
 18. Paulauskas A., Grigaliūnaitė I., Miceikienė I., Malevičiūtė J., Tubelytė-Kirdienė V. 2002. Genetikos praktikumas – DNR polimorfizmo tyrimo metodai. *Metodiniai nurodymai*. 72 p.
 19. Tapio I., Tapio M., Grislis Z., Holm L. E., Jeppsson S., Kantanen J., Miceikiene I., Olsaker I., Viinalass H., Eythorsdottir E. 2005. Unfolding of population structure in Baltic sheep breeds using microsatellite analysis. *Heredity*. Vol. 94. P. 448–456.
 20. Tapio M., Miceikiene I., Vilkki J., Kantanen J. 2003. Comparison of microsatellite and blood protein diversity in sheep: inconsistencies in fragmented breeds. *Molecular Ecology*. Vol. 12. P. 2045–2056.
 21. Tapio I., Varv S., Bennewitz J., Maleviciute J., Fimland E., Grislis Z., Meuwissen T. H. E., Miceikiene I., Olsaker I., Viinalass H., Vilkki J., Kantanen J. 2006. Prioritization for conservation of Northern European cattle breeds based on analysis of microsatellite data. *Conservation Biology*. Vol. 20(6). P. 1768–1779.
 22. *The R Project for Statistical Computing* [žiūrėta 2009-09-21]. Prieiga per internetą: <http://www.r-project.org/>

Natalja Makštutienė, Kristina Liucvaikienė,
Lina Baltrėnaitė, Kristina Morkūnienė, Paulius Morkūnas,
Alina Ramanauskienė, Ilona Miceikienė

INVESTIGATION OF MICROSATELLITES POLYMORPHISM IN MILK CATTLE BREEDS BRED IN LITHUANIA

Summary

The aim of the work was to investigate microsatellite polymorphism in Danish Red, Swedish Red, German Black and White, and German Red milk cattle breeds bred in Lithuania. 145 different alleles were found in tested TGLA 227, BM 2113, TGLA 53, ETH 10, SPS 115, TGLA 126, TGLA 122, INRA 23, ETH 3, ETH 225, BM 1824 cattle microsatellites in 120 cattle groups. The lowest number of different alleles was found in locus ETH 10, and the largest number was found in TGLA 227. In total, 82 rare alleles were found – the largest number in locus TGLA 122 and the lowest number in TGLA 126. 32 dominant alleles were found in 11 tested microsatellites – the lowest number in ETH 10 locus and the largest number in TGLA 227 locus. 28 unique alleles were most frequent in ETH 225 and TGLA 53 locuses and less frequent in TGLA 126 and ETH 10. The number of different alleles in all 11 tested microsatellites ranged from 42 in the German Red breed to 105 in the Danish Red breed. The largest number of dominant alleles was found in the Swedish Red, the lowest number in the German Black and White. The largest number of rare and unique alleles was found in the Danish Red, the lowest number in the German Red. All 11 tested microsatellites were found very polymorphic, therefore suitable for testing genetic diversity.

Key words: polymorphism, microsatellite, allele, cattle