

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ПОПУЛЯЦИИ КОРОВ БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ ПО ЛОКУСУ ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА И СВЯЗЬ ИХ ГЕНОТИПОВ С МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ

Основной задачей молочного скотоводства является создание высокопродуктивных стад животных, дающих молоко с большим содержанием белка и обладающее хорошими технологическими свойствами. Современные молекулярно-генетические методы по поиску генетических маркеров, связанных с белкомолочностью, позволяют выявить аллельные варианты генов по последовательности ДНК, напрямую связанных с молочной продуктивностью [1].

Возрастающее значение производства белковой продукции диктует необходимость использования современных генетических методов для повышения экономической эффективности этого производства [2].

Казеины – белки молока, секретируемые клетками молочной железы. На долю казеина приходится чуть более 80 % всего молочного белка [3]. Известно, что наличие В-аллельного варианта каппа-казеина (по сравнению с аллелем А) связано с более высоким содержанием белка в молоке, показателями молочной продуктивности (удойностью) и технологическими свойствами молока при производстве белково-молочных продуктов. Выход сыра из молока коров с генотипом CSN3^{ВВ} на 10 % выше, чем из молока коров с CSN3^{АА} генотипом. [4].

Разработка новых методов генотипирования полиморфных вариантов молочных белков на уровне ДНК открыла перспективу использования информации о генотипе в практической селекционной работе. Применение метода полимеразной цепной реакции – полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ) дает возможность определять аллельные варианты у производителей и молодняка, независимо от пола и возраста животных, что значительно ускоряет решение селекционных задач [2].

Целью нашей работы явилось установление частот А- и В- аллелей гена каппа – казеина у коров белорусской черно-пестрой породы в возрасте от 3 до 10 лет, изучение показателей молочной продуктивности коров с различными генотипами по локусу гена каппа-казе-

ина.

Опыты проводили в течение 2007-2008 гг. ЗАО «Ольговское» Витебского района Витебской области. Исследования проводили на образцах ДНК, полученных из ткани ушной раковины коров черно-пестрой породы размером $0,5^2 \times 0,5^2$ – 380 проб.

Генотипирование каппа-казеина проводилось методом ПЦР-ПДРФ с использованием праймеров: CAS1 и CAS2:

CAS1: 5'-ATA GCC AAA TAT ATC CCAATT CAG T-3'

CAS2: 5'-TTT ATT AATAAG TCC ATGAAT CTT G-3'.

Полученные продукты амплификации гены были изучены с помощью рестрикционного анализа. Для проведения рестрикции применялась эндонуклеаза HindIII.

ПЦР - программа: «горячий старт» – 95°C – 5мин; 35 циклов: денатурация – 94°C – 1мин, отжиг – 58°C – 1мин, синтез – 72°C – 1мин; элонгация – 72°C – 5мин.

Результаты расщепления продуктов ПЦР оценивались электрофоретическим методом в агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, с помощью трансиллюминатора в УФ-свете. Для анализа распределения рестрикционных фрагментов ДНК использовали компьютерную видеосистему и программу VITran.

Молочную продуктивность коров учитывали по данным зоотехнического учета хозяйства за 305 дней лактации. Процент белка определяли расчетным путем при помощи коэффициента корреляции процент жира – процент белка и с помощью ультразвукового прибора Лактан 1-4.

С помощью эндонуклеазы в препаратах ДНК выявлено два аллеля каппа-казеина: А и В. Отмечено наличие трех генотипов - CSN3^{AA}, CSN3^{AB}, CSN3^{BB}.

Анализ частоты встречаемости аллельных вариантов по гену каппа-казеина показал превосходство в концентрации аллеля CSN3^A над аллелем CSN3^B. Частота аллеля CSN3^A в популяции коров достигла 0,83, аллеля CSN3^B – 0,17.

Для проведения анализа генного равновесия в исследованной популяции использован критерий χ^2 , который позволил определить степень соответствия фактического распределения генотипов его теоретическим значениям. Так, по локусу гена каппа-казеина в популяции коров белорусской черно-пестрой породы 2,8 и не превышал табличного значения. Это свидетельствует о том, что полученные данные достоверны.

Распределение коров по генотипам было следующее: 264 животных имели генотип CSN3^{AA} (ответственный за синтез белка А каппа-казеина); 100 животных имели генотип CSN3^{AB} (белок, который со-

четает в себе свойства А и В белков каппа-казеина); 16 – животных – генотип CSN3^{BB} (желательный генотип, ответственный за белок В каппа-казеина).

Использование статистического метода Харди-Вайнберга позволило установить, что в данных популяциях генетическое равновесие смещено в сторону нежелательного гомозиготного генотипа AA.

В своих исследованиях мы проанализировали взаимосвязь между удою, содержанием жира и белка в молоке коров с различными генотипами каппа-казеина.

Содержание белка в молоке коров, имеющих генотип CSN3^{AA} составил 3,18 %; CSN3^{AB} – 3,19 %; CSN3^{BB} – 3,28 %. У животных с генотипом CSN3^{BB} содержание белка в молоке было выше, чем у животных с генотипом CSN3^{AA} на 0,1 % ($P < 0,05$), с генотипом CSN3^{AB} на 0,09 % ($P < 0,01$).

Гомозиготные особи с генотипом CSN3^{AA} уступают животным с генотипами CSN3^{AB}, CSN3^{BB} по удою и содержанию молочного белка, в том числе по удою на 1406 кг (CSN3^{BB}) ($P < 0,001$) и 890 кг (CSN3^{AB}) ($P < 0,05$), выходу молочного белка на 50,8 и 17,3 соответственно ($P < 0,001$, $P < 0,01$).

По содержанию жира в молоке в среднем коровы с генотипом CSN3^{AA} уступали коровам, имеющим в своем геноме аллельный вариант CSN3^B на 0,11 и 0,12 % ($P < 0,01$).

Установлено, что по содержанию молочного жира в молоке за лактацию коровы с гомозиготным генотипом CSN3^{BB} превосходили коров с генотипами CSN3^{AB} на 38,6 кг ($P < 0,05$) CSN3^{AA} на 57,8 кг ($P < 0,01$).

В исследованиях проанализирована генетическая структура популяции коров черно-пестрой породы ЗАО «Ольговское» Витебского района Витебской области по локусу гена каппа-казеина. В результате генотипирования гена каппа-казеина методом ДНК-диагностики выявлено три генотипа AA, AB, BB. Частота встречаемости гомозиготного генотипа CSN3^{AA} у коров достигает 69,5 %, гетерозиготного генотипа CSN3^{AB} – 26,3 %; гомозиготного генотипа CSN3^{BB} – 4,2 %. Частота аллеля CSN3^A в популяции коров составила - 0,83, CSN3^B - 0,17.

Установлено, наличие достоверного влияния полиморфных вариантов гена каппа-казеина на уровень удоя и содержание жира и белка в молоке коров.

Наиболее высокая молочная продуктивность за 305 дней лактации наблюдалась у коров с гомозиготным генотипом CSN3^{BB} (5984 кг), что на 890 кг больше, чем у животных с генотипом CSN3^{AB} (5094 кг), и на 1406 кг больше ($P < 0,05$), чем у коров с генотипом CSN3^{AA}

(4578 кг).

Коровы, которые своим геномом имели аллель В каппа-казеина, имеют более высокое содержание жира в молоке (CSN3^{AB} – 3,61 %, CSN3^{BB} – 3,72 %), чем животные с генотипом CSN3^{AA} – 3,60 %.

Результаты работы позволяют предположить, что генетические варианты гена каппа-казеина важны для селекционной практики, так как их можно использовать в качестве селекционно-генетических маркеров, которые позволят повысить удои и содержание белка в молоке.

Литература

1. Зиновьева, Н.А. ДНК-диагностика полиморфизма генов – белков крупного рогатого скота / Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь, О.В. Костюхина // Методы исследований в биотехнологии с.-х. животных // М.-2004.-С. 7-22.

2. Зиновьева, Н.А. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных. / Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь, Л.К. Эрнст, Г. Брэм. / ВИЖ.-2002.-122 с.

3. Улучшение качества молока коров черно-пестрой породы с использованием ДНК-диагностики. / Л.А. Калашникова, А.Ш. Тинаев, Е.А. Денисенко, Н.Е. Калашникова, И.Ю. Павлова / Методические рекомендации.- Москва.- Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела.-2007.- С. 33.

4. Schaar, J. Effect of genetic variants of k-casein and beta lactoglobulin on cheesemaking. / J. Schaar, B. Hansson, H. Pettersson // J. Dairy Res.-1985.-V. 52.-P. 429-437).

УДК 636.2.053:612.015

Соболева Ю.Г., ассистент кафедры химии

ВОЗРАСТНЫЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В оценке метаболического статуса животных важное место принадлежит изучению активности ферментов. Функционирование ферментов отражает скорость и направленность метаболических процессов в организме. Так как печень, из-за своих анатомических и биохимических особенностей, участвует в регуляции практически всех