

3. В каждой из пород созданы селекционные группы маток и жеребцов-производителей, направленное разведение которых обеспечит получение конкурентоспособного конепоголовья для племенного использования.

Литература

1. Республиканская программа по племенному делу в животноводстве на 2007-2010 годы. Основные зоотехнические документы по селекционно-племенной работе в животноводстве : сборник технологической документации / Науч.-практический центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству ; рук. разработ. : Н. А. Попков [и др.]. – Жодино : Науч.-практический центр НАН Беларуси по животноводству, 2008. – 475,[1] с.

2. Лазовский, А. А. Породы лошадей / А. А. Лазовский. – Витебск, 2003. – 96 с.

3. Воспроизводство и выращивание лошадей // Организационно-технологические нормативы производства продукции животноводства и заготовки кормов : сб. отраслевых регламентов. – Минск : Белорусская наука, 2007. – С. 120-158

(поступила 26.02.2010 г.)

УДК 636.2.082.11:575

Ж.А. ГРИБАНОВА

ДНК-ТЕСТИРОВАНИЕ ПЛЕМЕННЫХ КОРОВ БЕЛОРУСКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ ПО ЛОКУСАМ ГЕНОВ БЕЛКОВ МОЛОКА

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

Введение. В последнее время актуальной задачей отрасли молочного скотоводства является не только повышение уровня молочной продуктивности, но и улучшение качественных показателей получаемого молока.

Особое значение приобретает вопрос повышения содержания белка в молоке, как основного компонента, определяющего его пищевую ценность и технологические свойства. Решение этой задачи возможно не только с использованием традиционных методов селекции, но и с применением новых генетических методов, позволяющих выявлять животных-носителей желательных генотипов, а также прогнозировать их продуктивные качества в раннем возрасте.

Одним из высокоэффективных методов современной молекулярной генетики является ДНК-тестирование, которое позволяет идентифицировать генотипы животных, связанные с признаками белкомолочности. В молочном скотоводстве это, в первую очередь, гены, кодирую-

щие молочные белки: каппа-казеин (CSN3), бета-лактоглобулин (BLG) и альфа-лактальбумин (LALBA).

Наиболее известным геном, связанным с уровнем белка в молоке, является ген CSN3. В ряде исследований [1, 2] установлено, что аллель CSN3^B имеет ряд отличительных особенностей по сравнению с аллелем CSN3^A: различие в размере мицелл, более высокое содержание протеина, большую стабильность при нагревании и замораживании, лучшие свойства для сыроделия (более короткое время коагуляции, коагулят более плотной консистенции). Животные с гомозиготным генотипом CSN3^{BB} имеют превосходство по содержанию белка на 0,2-0,4% [3]. Молоко, полученное от этих коров, по технологическим параметрам имеет преимущество для производства белкомолочных продуктов: повышение содержания казеина в молоке увеличивает выход сыра не только за счет массы казеина, но и за счет увеличения количества связываемой влаги.

Менее изучены гены сывороточных белков молока BLG и LALBA, которые также могут найти применение в маркерзависимой селекции на белкомолочность. Установлено, что ген BLG определяет уровень белка в молоке: аллель BLG^B связывают с более высоким содержанием в молоке казеиновых белков и лучшими параметрами казеинового коагулята, а аллель BLG^A ассоциируют с большим общим удоем и высоким содержанием сывороточных белков [4, 5].

Ген LALBA играет функциональную роль в изменении объема синтезируемого молока: животные с генотипом LALBA^{AA} превосходят по удою животных с генотипом LALBA^{BB} [5].

Целью нашей работы явилось изучение полиморфизма генов белков молока: каппа-казеина, бета-лактоглобулина и альфа-лактальбумина у племенных коров белорусской черно-пестрой породы.

Материал и методика исследований. Исследования проводили в 2007-2009 гг. на базе РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». Объектом исследований являлись племенные коровы белорусской черно-пестрой породы, разводимые в РУСП «Экспериментальная база «Жодино» (289 голов), племязаводе «Красная Звезда» Минской области (324 головы), племязаводе «Муховец» Брестской области (184 головы). ДНК-тестирование животных проводилось методом ПЦР-ПДРФ.

Для идентификации генотипов животных по локусам генов белков молока (CSN3, BLG и LALBA) у исследуемых коров брали биопробы ткани ушной раковины. Ядерную ДНК выделяли перхлоратным методом с собственными модификациями. При проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали праймеры, специфичные для каждого гена.

Для амплификации фрагмента гена CSN3:
CAS1 5' - ATA GCC AAA TAT ATC CCA ATT CAG T - 3'
CAS2 5' - TTT ATT AAT AAG TCC ATG AAT CTT G - 3'

Для амплификации фрагмента гена BLG:
LG 1 5' - TGT GCT GGA CAC CGA CTA CAA AAA G - 3'
LG 2 5' - GCT CCC GGT ATA TGA CCA CCC TCT - 3'

Для амплификации фрагмента гена LALBA:
LAC 1 5' - AAG AGT TGG ATG GAA TCA CC - 3'
LAC 2 5' - TTC AAA TTG CTG GCA TCA AGC - 3'

ПЦР-программа выбиралась согласно разработанным методикам.

Рестрикция амплифицированных участков генов CSN3, BLG и LALBA осуществлялась с использованием рестриктаз HindIII, HaeIII и SduI, соответственно, при температуре 37°C в течение 5-6 часов.

Концентрацию, нативность, подвижность ДНК, концентрацию и специфичность амплификата, а также результаты расщепления рестриктазой продуктов ПЦР оценивали 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. В качестве маркера использовали ДНК плазмиды pBR322, расщепленную рестриктазой AluI, либо рестриктазой BsuRI.

По результатам ДНК-тестирования установлен полиморфизм по изучаемым генам. Полученные данные обработаны статистически: проведен расчет частот встречаемости генотипов и аллелей исследуемых генов (CSN3, BLG, LALBA), а также оценено генетическое равновесие по формуле Харди-Вайнберга с использованием метода хи-квадрат [6].

Результаты эксперимента и их обсуждение. В ходе проведенных исследований установлено наличие полиморфизма по трем изучаемым генам CSN3, BLG и LALBA и идентифицированы генотипы: CSN3^{AA}, CSN3^{AB}, CSN3^{BB}, BLG^{AA}, BLG^{AB}, BLG^{BB}, LALBA^{AA}, LALBA^{AB}, LALBA^{BB}. Распределение аллельных и генотипических частот по исследуемым генам представлено в таблицах 1-3.

По локусу гена CSN3 во всех хозяйствах выявлено существенное преобладание животных с генотипом CSN3^{AA}, частота встречаемости которого находилась в пределах от 65,1 % в экспериментальной базе «Жодино» до 78,8 % в племязаводе «Муховец». При этом частота встречаемости аллеля CSN3^A в гомо- и гетерозиготной формах варьировала от 0,806 (экспериментальная база «Жодино») до 0,889 (племязавод «Муховец»).

Средний процент встречаемости коров гетерозиготного генотипа CSN3^{AB} оказался ниже встречаемости животных генотипа CSN3^{AA} на 45 %. Как показали исследования, в среднем по всем протестирован-

ным хозяйствам лишь 2,4 % коров являлись носителями желательного гомозиготного генотипа CSN3^{BB}, наибольшая частота которого установлена в экспериментальной базе «Жодино» (3,8 %), а наименьшая – в племязаводе «Муховец» (1,1 %). Наименьшая частота встречаемости аллеля CSN3^B (0,111) была отмечена у животных племязавода «Муховец» Брестской области, самая высокая (0,194) – в экспериментальной базе «Жодино».

Таблица 1 – Генетическая структура племенных стад коров белорусской черно-пестрой породы по локусу гена CSN3

Хозяйство	n	Распределение	Частота встречаемости генотипов			Частота встречаемости аллелей		χ^2
			AA	AB	B B	A	B	
э/б «Жодино»	289	Ф	65,1	31,1	3,8	0,806	0,194	0,003
		Т	65,0	31,2	3,8			
п/з «Муховец»	184	Ф	78,8	20,1	1,1	0,889	0,111	0,045
		Т	79,0	19,7	1,3			
п/з «Красная Звезда»	324	Ф	72,5	25,6	1,9	0,853	0,147	0,183
		Т	72,8	25,0	2,2			
Среднее	797	Ф	71,3	26,3	2,4	0,844	0,156	

Таблица 2 – Генетическая структура племенных стад коров белорусской черно-пестрой породы по локусу гена BLG

Хозяйство	n	Распределение	Частота встречаемости генотипов			Частота встречаемости аллелей		χ^2
			AA	AB	BB	A	B	
э/б «Жодино»	289	Ф	24,6	48,1	27,3	0,486	0,514	0,402
		Т	23,6	50,0	26,4			
п/з «Муховец»	184	Ф	27,1	48,4	24,5	0,514	0,486	0,187
		Т	26,3	50,0	23,7			
п/з «Красная Звезда»	324	Ф	29,3	51,2	19,5	0,549	0,451	0,392
		Т	30,2	49,5	20,3			
Среднее	797	Ф	27,1	49,4	23,5	0,518	0,482	

Таблица 3 – Генетическая структура племенных стад коров белорусской черно-пестрой породы по локусу гена LALBA

Хозяйство	n	Рас- пре- деле- ние	Частота встречаемости генотипов, %			Частота встречаемо- сти аллелей		χ^2
			AA	AB	BB	A	B	
э/б «Жодино»	289	Ф	35,3	51,2	13,5	0,609	0,391	1,639
		Т	37,1	47,6	15,3			
п/з «Муховец»	184	Ф	59,8	36,4	3,8	0,780	0,220	
		Т	60,8	34,4	4,8			
п/з «Красная Звезда»	324	Ф	41,0	42,0	17,0	0,620	0,380	3,838
		Т	38,5	47,1	14,4			
Среднее	797	Ф	43,3	44,0	12,7	0,653	0,347	

Существенной разницы в распределении частот встречаемости генотипов по локусу гена каппа-казеина в зависимости от хозяйства не выявлено.

Изучение полиморфизма гена бета-лактоглобулина показало, что распределение частот встречаемости генотипов и аллелей во всех хозяйствах оказалось примерно на одном уровне. Доля животных с генотипом BLG^{AB} в среднем составила около половины (49,4 %) от всех протестированных особей. Процент гомозиготных генотипов BLG^{AA} и BLG^{BB} был почти одинаковым – 27,1 и 23,5 %, соответственно. Частота встречаемости аллеля BLG^A составила 0,518 и аллеля BLG^B – 0,482. Только в экспериментальной базе «Жодино» частота встречаемости аллеля BLG^B была несколько выше (0,514) по сравнению с аллелем BLG^A (0,486).

Выявлено три полиморфных варианта гена альфа-лактальбумина, из которых наибольшую частоту встречаемости в среднем по хозяйствам имели гетерозиготный генотип $LALBA^{AB}$ и гомозиготный $LALBA^{AA}$ (44,0 и 43,3 %, соответственно). Самый высокий процент встречаемости гетерозиготного генотипа выявлен у животных экспериментальной базы «Жодино» – 51,2 %, наибольший процент гомозиготного генотипа $LALBA^{AA}$ установлен в племязаводе «Муховец» – 59,8 %. В данном хозяйстве также отмечена исключительно низкая встречаемость животных с генотипом $LALBA^{BB}$ – 3,8 %, хотя в других хозяйствах этот показатель составил более 10 %.

Частоты встречаемости аллелей гена альфа-лактальбумина имели незначительные отличия по хозяйствам и варьировали в пределах: $LALBA^A$ (0,609-0,780) и $LALBA^B$ (0,220-0,391).

Использование метода Харди-Вайнберга позволило установить, что в исследуемых хозяйствах нет сдвига генетического равновесия по генам каппа-казеина и бета-лактоглобулина, что свидетельствует об отсутствии отбора, затрагивающего генотипы животных по локусам данных генов молочных белков.

Превышение табличного значения показателя χ^2 (3,838) и наличие генного сдвига по гену альфа-лактальбумину в племязаводе «Красная звезда» связано, вероятно, с закреплением за хозяйством быков-производителей преимущественно с генотипом LALBA^{AA}.

Заключение. Исследование полиморфизма генов белков молока позволяет не только оценить генетическую структуру стад, но и дает возможность вести селекционную работу, используя в качестве дополнительных критериев определенные варианты генов, связанные с белково-молочностью и технологическими свойствами молока.

Литература

1. Иолчиев, Б. Использование полиморфных систем белков молока в селекции / Б. Иолчиев, М. Еремина // Молочное и мясное скотоводство. – 1996. – № 2. – С. 20-23.
2. Глазко, В. И. Современные направления использования ДНК-технологий / В. И. Глазко, Н. Н. Доманский, А. А. Созинов // Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32, № 5. – С. 153.
3. Юхманова, Н. Влияние каппа-казеина на качество молока и его сыропригодность / Н. Юхманова, Л. А. Калашникова // Молочное и мясное скотоводство. – 2004. – № 8. – С. 24-25.
4. Технологические свойства молока коров разных генотипов по генам каппа-казеина, бета-лактальбумина и альфа-лактальбумина / О. В. Костюнина [и др.] // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы 4-й междунар. науч. конф. (24-25 нояб.). – Дубровицы, 2004. – С. 2. – Соавт. : Хрипякова Е. Н., Стрекозов Н. И., Зиновьева Н. А.
5. Гладырь, Е. А. Диагностика полиморфизма гена альфа-лактальбумина крупного рогатого скота / Е. А. Гладырь, О. В. Костюнина, А. Каграманова // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы 2-й междунар. науч. конф. (19-20 нояб.). – Дубровицы, 2002. – С. 109-110.
6. Меркурьева, Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е. К. Меркурьева. – М. : Колос, 1977. – 240 с.

(поступила 15.03.2010 г.)