

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

**СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО –
ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

Сборник научных трудов

Основан в 2003 году

Под редакцией члена-корреспондента
НАН Беларуси В. К. Пестиса

Том 26

ЗООТЕХНИЯ

*Гродно
ГГАУ
2014*

**АССОЦИАЦИЯ STR-ЛОКУСОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ
С ПРИЗНАКАМИ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ**

О.А. Епишко¹, Л.А. Танана¹, Н.А. Глинская², В.В. Пешко¹

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

² – УО «Полесский государственный университет»,
г. Пинск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 08.07.2014 г.)

Аннотация. На базе УО «Полесский государственный университет» в научно-исследовательской лаборатории промышленной биотехнологии проведено генетическое тестирование по 11-STR локусам нуклеотидных последовательностей ДНК и изучена ассоциация STR-локусов крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы с признаками молочной продуктивности.

Summary. On the basis of the research laboratory of industrial biotechnology of "Polesky State University" the genetic testing on 11-STR loci of nucleotide sequences of DNA has been carried out and the association of STR-loci of the cattle of Belarus black-motley breed with milk production characteristics has been studied.

Введение. Применение STR-локусов даёт возможность определять корреляцию между хозяйственно-полезными признаками и определяю-

щими их генетическими структурами, проводить отбор животных с желательным генотипом в любом возрасте.

В работах многих ученых были предприняты попытки определения связи аллельных вариантов изучаемых STR-локусов с признаками молочной продуктивности, что позволило определить локусы, ассоциированные с хозяйственно-полезными признаками. Основным требованием, предъявляемым к маркерам, используемым для изучения ассоциации с локусами хозяйственно-полезных признаков, является высокий уровень полиморфизма [1-4].

Материалы и методика исследований. В процессе работы методом ПЦР-ПДРФ анализа исследован полиморфизм генов каппа-казеина (CSN3) и бета-лактоглобулина (BLG) у быкопроизводящих коров белорусской чёрно-пёстрой породы, содержащихся в СПК «Агрокомбинат Снов» (n=47) и КСУП «ПЗ Красная звезда» (n=53) Минской области.

Для амплификации участка генов CSN3 и BLG использовали праймеры и программы:

CSN1: 5' – ATAGCCAAATATATCCCAATTTCAGT– 3';

CSN2: 5' – TTTATTAATAAGTCCATGAATCTTG– 3'.

BLG 1: 5' – TGTGCTGGACACCGACTACAAAAAG– 3';

BLG 2: 5' – GCTCCCGGTATATGACCACCCTCT– 3'.

CSN3: ПЦР-программа: «горячий старт» – 5 минут при 93⁰С; 35 циклов: денатурация – 30 секунд при 93⁰С, отжиг – 1 минута при 60⁰С, синтез – 1 минута при 72⁰С; достройка– 5 минут при 72⁰С.

BLG: ПЦР-программа: «горячий старт» – 5 минут при 95⁰С; 35 циклов: денатурация – 40 секунд при 95⁰С, отжиг – 50 секунд при 60⁰С, синтез – 50 секунд при 72⁰С; достройка– 7 минут при 72⁰С.

Амплификацию генов CSN3 и BLG проводили с использованием реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащую 1xTaq-буфер, 2 мМdNTP, 25 пМ каждого праймера, 1 ед. акт. Taq-полимеразы, 100-200 нг геномной ДНК.

Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 2% агарозном геле. В качестве маркера использовали ДНК плазмиды BR 322, расщепленную рестриктазами. Длина фрагмента гена CSN3 составляла 530 п.о., BLG – 247 п.о.

Для рестрикции амплифицированного участка генов CSN3 и BLG использовали эндонуклеазы: HindIII и BsuRI (HaeIII) соответственно. Реакцию проводили при температуре 37⁰С. Продукты рестрикции генов разделяли электрофоретически в агарозном геле в TBE буфере при УФ-свете с использованием бромистого этидия на системе гель-документирования Quantum (рисунк 2.5, 2.6).

Наличие на геле одной полосы размером 530 п.о. соответствует генотипу CSN3^{AA}, двух полосок размером 400 п.о. и 130 п.о. – генотипу CSN3^{BB} (предпочтителен – более высокое содержание белка в молоке и выход сыра, лучшие коагуляционные свойства молока) и трех полос длиной 530 п.о. 400 п.о. и 130 п.о. – генотипу CSN3^{AB}.

Цель работы – выявить ассоциацию str-локусов крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы с признаками молочной продуктивности.

Результаты исследований и их обсуждение. Проведено сопоставление частот встречаемости исследованных аллелей STR-локусов быкопроизводящих коров СПК «Агрокомбинат Снов» и КСУП «ПЗ «Красная звезда» со средними данными по племенному ядру.

Средний удой по исследованной группе коров СПК «Агрокомбинат Снов» (n=47) составил 11184,4 кг, из них в группе быкопроизводящих коров (n=26) – 11744,1 кг.

Быкопроизводящие коровы, разводимые в СПК «Агрокомбинат Снов», характеризуются большей частотой встречаемости следующих аллелей: 160 и 163 локуса TGLA53; 130 и 138 локуса BM2113; 174 локуса BM1824; 216 локуса ETH10; 152 и 185 локуса TGLA122; 246 локуса SPS115; 91 и 99 локуса TGLA227; 121 локуса ETH3.

У них реже обнаруживаются аллели 156 локуса ETH225; 162 локуса TGLA53; 127, 129 и 141 локуса BM2113; 209, 221 и 225 локуса ETH10; 137 и 150 локуса TGLA122; 248 локуса SPS115 и 77 локуса TGLA227.

Данная группа быкопроизводящих коров характеризуется отсутствием нижеперечисленных аллелей: 145 и 153 локуса ETH225; 109, 113 и 125 TGLA126; 156 локуса TGLA53; 141 и 161 локуса TGLA122; 249, 255, 261 и 262 локуса SPS115; 83 и 97 локуса TGLA227; 109 и 126 локуса ETH3.

В исследуемой группе животных КСУП «ПЗ «Красная звезда» (n=53) средний удой составил 9594,2 кг, а из них в группе быкопроизводящих коров (n=27) – 10351,2 кг.

Быкопроизводящие коровы, разводимые в КСУП «ПЗ «Красная звезда», характеризуются большей частотой встречаемости следующих аллелей: 179, 181, 189 и 197 локуса BM1824; 113 локуса ETH3; 142, 159, 160 и 161 локуса TGLA122; 135, 139, 160 и 161 локуса ETH225; 224, 225, 229 и 231 локуса ETH10; 129, и 143 локуса BM2113; 90 и 107 локуса TGLA227; 151, 160, 169 и 184 локуса TGLA53; 199, 200, 207 и 226 локуса INRA023; 109 и 118 локуса TGLA126; 251 и 262 локуса SPS115.

В данной группе быкопроизводящих коров реже встречаются аллели 178 и 188 локуса BM1824; 118, 120, 127 и 129 локуса ETH3; 141, 143, 145, 147, 150, 163 и 166 локуса TGLA122; 144, 150, 154 и 158 локуса ETH225; 216 и 219 локуса ETH10; 131, 132, 133 и 137 локуса BM2113; 83, 93, 98,

110 и 112 локуса TGLA227; 155, 156 и 162 локуса TGLA53; 208, 214 и 222 локуса INRA023; 126 локуса TGLA126; 247, 252 и 256 локуса SPS115. У них отсутствуют следующие аллели: 190 и 191 локуса BM1824; 123 локуса ETH3; 135, 136, 144, 158 и 164 локуса TGLA122; 142 и 153 локуса ETH225; 207, 213, 227 и 228 локуса ETH10; 124, 135 и 145 локуса BM2113; 75, 81, 96, 97, 99, 105 и 109 локуса TGLA227; 150, 165, 166, 170 и 171 локуса TGLA53; 228 локуса INRA023; 111, 112, 113 и 122 локуса TGLA126; 243 и 261 локуса SPS115.

Таким образом, у быкопроизводящих коров белорусской чернопестрой породы выявлено некоторое своеобразие по частотам встречаемости отдельных аллелей STR-локусов. При отборе животных следует отдавать предпочтение особям с наличием в геноме аллельных вариантов, чаще встречающихся в группе скота с высоким уровнем молочной продуктивности.

В наших исследованиях мы также попытались найти взаимосвязь изучаемых STR-локусов с хозяйственно-полезными свойствами молока. Основными селекционными признаками, характеризующими качество молока, его технологические и биологические свойства, являются содержание белка и жира в молоке. В качестве потенциальных генов маркеров молочной продуктивности нами были рассмотрены гены каппа-казеина (CSN3), бета-лактоглобулина (BLG).

Ген каппа-казеина связан с признаками белкомолочности и технологическими свойствами молока. Мировой опыт показывает, что аллель В гена каппа-казеина (CSN3^B) ассоциирован с более высоким содержанием белка в молоке и более высокими надоями у коров, лучшими коагуляционными свойствами молока: большей стабильностью при нагревании и замораживании, более коротким временем коагуляции, коагулятором более плотной консистенции, а также более высоким выходом творога и сыра.

Практика сыроделия в Республике Беларусь показывает, что более твердые сыры могут быть изготовлены только из молока, полученного от коров с генотипом CSN3^{BB}.

Ген бета-лактоглобулина – второй по значимости генетический маркер молочной продуктивности и технологических свойств молока: аллель BLG^B связан с высоким содержанием казеиновых белков, большим процентом жира и лучшими параметрами казеинового коагулянта. Наличие в генотипе животного аллеля BLG^N ассоциировано с высоким содержанием сывороточных белков и более высоким общим удоем. Генотипы BLG^{BB} и BLG^{AB} оказывают положительное влияние на химический состав и технологические свойства молока.

Нами был изучен полиморфизм генов CSN3 и BLG в группах быкопроизводящих коров белорусской чёрно-пёстрой породы, содержащихся в КСУП «ПЗ Красная звезда» (n=53) и СПК «Агрокомбинат Снов» (n=47) Минской области.

Анализ полиморфизма группы быкопроизводящих коров черно-пестрой породы, разводимых в КСУП «ПЗ Красная звезда» по гену BLG, показал, что в группе животных с наличием в геноме чаще встречающихся аллельных вариантов по изученным STR-локусам большинство особей – 56,6% являются носителями генотипа BLG^{NB}, 43,4% – BLG^{BB}, особей с генотипом BLG^{NN} не выявлено (таблица 1).

Таблица 1 – Генетическая структура быкопроизводящих коров белорусской черно-пестрой породы, разводимых в КСУП «ПЗ Красная звезда», по генам BLG и CSN3

Ген	Количество животных, n	Распределение	Частота встречаемости генотипов, %	Частота встречаемости аллелей
BLG	53	Ф	NB – 56,6 BB – 43,4 NN – 0	N – 0,217 B – 0,783
CSN3	53	Ф	AA – 77,4 AB – 22,6 BB – 0	A – 0,774 B – 0,226

Частота встречаемости аллелей BLG^N и BLG^B составила 0,217 и 0,783 соответственно. Частоты встречаемости генотипов по гену CSN3 в исследуемой группе быкопроизводящих коров черно-пестрой породы составили: CSN3^{AA} – 77,4%, CSN3^{AB} – 22,6%, особей с генотипом CSN3^{BB} выявлено не было. Частота встречаемости аллеля CSN3^A составила 0,774, CSN3^B – 0,226.

Средний удой (кг), жир (%) и белок (%) с данными аллельными вариантами представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Молочная продуктивность быкопроизводящих коров белорусской черно-пестрой породы КСУП «ПЗ Красная звезда» (n=53)

Ген	Удой, кг	Жирномолочность, %	Белок, %
CSN3	CSN3 ^{AA} – 9875±96,1	CSN3 ^{AA} – 4,37±0,01	CSN3 ^{AA} – 3,26±0,04
	CSN3 ^{AB} – 1235±101,3	CSN3 ^{AB} – 4,49±0,20	CSN3 ^{AB} – 3,26±0,05
BLG	BLG ^{BB} – 10854±119,6	BLG ^{BB} – 4,50±0,15	BLG ^{BB} – 3,31±0,07
	BLG ^{NB} – 9668±96,6	BLG ^{NB} – 4,32±0,10	BLG ^{NB} – 3,22±0,02

Из данных таблицы 2 видно, что средний удой за лактацию у быкопроизводящих коров с генотипами по генам CSN3^{AB}, BLG^{BB} составил 11235 кг, 10854 кг, что на 12,1%, 10,9% больше, чем у коров с генотипами CSN3^{AA}, BLG^{NB} соответственно.

Жирномолочность у быкопроизводящих коров с генотипами CSN3^{AB}, BLG^{BB} составила 4,49%, 4,50%, что на 0,12%, 0,18% выше, чем у коров с генотипами CSN3^{AA}, BLG^{NB}.

Белковомолочность у быкопроизводящих коров с генотипами по гену CSN3^{AB} и CSN3^{AA} не отличалась и составила 3,26%, а у коров с генотипом по гену BLG^{BB} на 0,09% больше по сравнению с генотипом BLG^{NB}.

Анализ полиморфизма группы быкопроизводящих коров черно-пестрой породы, разводимых в СПК «Агрокомбинат Снов», по гену BLG показал, что в группе животных с наличием в геноме чаще встречающихся аллельных вариантов по изученным STR-локусам большинство особей – 53,2% являются носителями генотипа BLG^{NB}, 46,8% – BLG^{BB}, особей с генотипом BLG^{NN} не выявлено (таблица 3).

Таблица 3 – Генетическая структура быкопроизводящих коров белорусской черно-пестрой породы, разводимых в СПК «Агрокомбинат Снов», по генам BLG и CSN3

Ген	Количество животных, n	Распределение	Частота встречаемости генотипов, %	Частота встречаемости аллелей
BLG	47	Ф	NB – 53,2 BB – 46,8 NN – 0	N – 0,234 B – 0,766
CSN3	47	Ф	AA – 72,3 AB – 27,7 BB – 0	A – 0,723 B – 0,277

Частота встречаемости аллелей BLG^N и BLG^B составила 0,234 и 0,766 соответственно. Частоты встречаемости генотипов по гену CSN3 в исследуемой группе быкопроизводящих коров черно-пестрой породы составили: CSN3^{AA} – 72,3%, CSN3^{AB} – 27,7%, особей с генотипом CSN3^{BB} выявлено не было. Частота встречаемости аллеля CSN3^A составила 0,723, CSN3^B – 0,277.

Средний удой (кг), жир (%) и белок (%) с данными аллельными вариантами представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Молочная продуктивность быкопроизводящих коров белорусской черно-пестрой породы СПК «Агрокомбинат Снов» (n=47)

Ген	Удой, кг	Жирномолочность, %	Белок, %
CSN3	CSN3 ^{AA} – 10558±151,3	CSN3 ^{AA} – 3,99±0,05	CSN3 ^{AA} – 3,14±0,02
	CSN3 ^{AB} – 12053±191,4	CSN3 ^{AB} – 3,99±0,12	CSN3 ^{AB} – 3,25±0,02
BLG	BLG ^{BB} – 11823±133,3	BLG ^{BB} – 3,98±0,08	BLG ^{BB} – 3,32±0,03
	BLG ^{NB} – 10155±139,6	BLG ^{NB} – 4,00±0,06	BLG ^{NB} – 3,18±0,03

Из данных таблицы 4 видно, что средний удой за лактацию у быкопроизводящих коров с генотипами по генам CSN3^{AB}, BLG^{BB} составил 12053 кг, 11823 кг, что на 12,4%, 14,1% больше, чем у коров с генотипами CSN3^{AA}, BLG^{NB} соответственно.

Жирномолочность у быкопроизводящих коров с генотипами CSN3^{AB}, BLG^{BB} и CSN3^{AA}, BLG^{NB} находилась приблизительно на одном уровне 3,99%, 3,98% и 3,99%, 4,00% соответственно.

Белкомолочность у быкопроизводящих коров с генотипами по генам CSN3^{AB}, BLG^{BB} находилась на уровне 3,25%, 3,32%, что на 0,11%, 0,14% больше по сравнению с генотипами коров CSN3^{AA}, BLG^{NB} соответственно.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования показали, что животные, унаследовавшие в своем геноме аллельные варианты по STR-локусам (174, 179, 181, 189 и 197 локуса BM1824; 113 и 121 локуса ETH3; 142, 152, 159, 160 и 161 локуса TGLA122; 135, 139, 160 и 161 локуса ETH225; 216, 224, 225, 229 и 231 локуса ETH10; 129, 130, 138 и 143 локуса BM2113; 90, 91, 99 и 107 локуса TGLA227; 151, 160, 163, 169 и 184 локуса TGLA53; 199, 200, 207 и 226 локуса INRA023; 109 и 118 локуса TGLA126; 246, 251 и 262 локуса SPS115), имели предпочтительные генотипы по генам CSN3^{AB} и BLG^{BB}, которые проявили превосходство по удою, жирномолочности и содержанию белка в молоке по сравнению с животными других генотипов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Столповский, Ю.А. Сохранение генетических ресурсов крупного рогатого скота // Генетические ресурсы крупного рогатого скота / Под. ред. И.А. Захарова. М.: Наука, 1993. – 5-19 с.
2. Столповский, Ю.А., Захаров, И.А. Генетические аспекты проблемы сохранения биологического разнообразия домашних животных // Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства России / ред. И.А. Захаров. М.: Наука, 2006. – 8-22 с.
3. Сулимова, Г.Е., Столповский, Ю.А., Каштанов, С.Н., Моисеева, И.Г., Захаров, И.А. Методы управления генетическими ресурсами domesticированных животных / Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. – 331-340 с.
4. Guo, S. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles / S. Guo, E. Thomson // Biometrics. – 1992. – Vol. 48 – 361-372 p.