

УДК 636.22/.28.082.2(476:6)

*В. В. ПЕШКО, Л. А. ТАНАНА*

**ОЦЕНКА БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ  
В РУП «ГРОДНЕНСКОЕ ПЛЕМПРЕДПРИЯТИЕ»  
ПО ЛОКУСУ ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА**

*Гродненский государственный аграрный университет*

В настоящее время, с развитием молекулярной генетики и молекулярной биологии, становится возможным идентификация генов, напрямую или косвенно связанных с молочной продуктивностью животных. Выявление предпочтительных с точки зрения селекции вариантов таких генов позволит дополнительно к традиционному отбору животных проводить селекцию на уровне ДНК-технологий, т. е. по генотипу.

Преимущество ДНК-технологий заключается в том, что можно определить генотип животного независимо от пола, возраста и физиологического состояния особей, что является важным этапом в селекционной работе. В странах с развитым молочным скотоводством в селекции внедряются достижения биотехнологии, например, тестирование животных, особенно быков-производителей по генам, контролирующим синтез белков молока.

Внимание исследователей в последнее время привлекает локус гена одного из основных молочных белков – каппа-казеина (CSN3). Каппа-казеин – один из немногих известных генов, однозначно связанный с признаками белкомолочности и технологическими свойствами молока. По данным зарубежных исследователей, В-аллель гена CSN3 ассоциирован с более высоким содержанием белка в молоке, высоким выходом творога и сыра, а также лучшими коагуляционными свойствами молока [2].

Основной задачей молочного животноводства является получение высокопродуктивных животных, которые дают молоко с большим содержанием белка, обладающее хорошими технологическими свойствами.

Цель настоящей работы – оценка быков-производителей черно-пестрой породы и западноевропейской селекции по белкомолочности методом ДНК-диагностики каппа-казеина.

**Объекты и методы исследований.** Объектом наших исследований являлся генетический материал (семя) быков-производителей черно-пестрой породы отечественной и западноевропейской селекции с различной кровностью по голштинской породе, содержащихся на Щучинском филиале РУП «Гродненское племпредприятие». Нами было отобрано 55 спермадоз от быков-производителей различных линий голштинского (линии Ройбрука-Телстера, Белла-Маяка, Старбука-Кляйтуса, Валериана-Блекстера, Пакламара-Астронавта, Пабста-Говернера, Силинг Трайджун Рокит, Пакламара-Бутмакера, Пони Фарм Арлинда Чифа) и голландского (линии Адема 441, Адема 433, Хильтес Адема 37910, Реванша-Нагана, Рутьес-Эдуарда) корня. Исходным материалом служили образцы ДНК, выделенные, как правило, из замороженных образцов семени животных. ДНК-диагностику генотипов молочного белка (CSN3) проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Ядерную ДНК выделяли из разбавленной спермы (пайеты) перхлоратным методом с собственными модификациями. Основные растворы для выделения ДНК, амплификации и рестрикции готовили по Маниатису Т., Фрич Э., Сэмбруку Дж. [1].

Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали олигонуклеотидные праймеры: CAS1: 5' -ATA GCC AAA TAT ATC CCA ATT CAG T- 3' и CAS2: 5'- TTT ATT AAT AAG TCC ATG AAT CTT G -3'.

Концентрацию ДНК, специфичность амплификата и результаты рестрикции оценивали электрофоретическим методом в агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, с помощью трансиллюминатора в проходящем УФ-свете с длиной волны 260 нм. В качестве маркера использовали ДНК плазмиды pBR322, расщепленную рестриктазой AluI.

10 мкл амплификата расщепляли рестриктазой HindIII при температуре 37°C в течение 4 ч. Продукты рестрикции разделяли электрофоретически в 4%-ном агарозном геле при напряжении 100В в течение 1 ч. Для анализа распределения рестрикционных фрагментов ДНК в агарозном геле после электрофореза использовали компьютерную видеосистему и программу VITrap.

Частоту генотипов и аллелей рассчитывали по формуле

$$\chi^2 = \sum \frac{(P_{\text{эмп}} - P_{\text{теор}})^2}{P_{\text{теор}}},$$

где  $P_{\text{эмп}}$  – фактическое количество особей данного генотипа, полученное в опыте;  $P_{\text{теор}}$  – теоретически ожидаемое количество особей данного генотипа.

**Результаты и их обсуждение.** Представленные в табл. 1 данные свидетельствуют о том, что у отобранных быков чаще встречается генотип каппа-казеина AA, чем генотип каппа-казеина АВ. Так, у быков линий голштинского корня он обнаружен у 25 животных (67,6%), а у быков линий голландского корня – у 11 (61,1%).

Т а б л и ц а 1. Генетическая структура быков-производителей различных генотипов по локусу гена каппа-казеина

Линии	Количество быков	Количество быков с генотипом каппа-казеина			
		AA		AB	
		голов	%	голов	%
Голштинского корня	37	25	67,6	12	32,4
Голландского корня	18	11	61,1	7	38,9

При исследовании ядерной ДНК быков-производителей черно-пестрой породы и западно-европейской селекции выявлены генотипы каппа-казеина AA и АВ. Животных с генотипом BB, связанным с более высоким содержанием белка в молоке, не обнаружено. Этого, по нашему мнению, и следовало ожидать, так как в нашей республике селекция крупного рогатого скота по белковомолочности до последнего времени не проводилась.

Т а б л и ц а 2. Частота встречаемости генотипов и аллелей по гену каппа-казеина у быков-производителей

Принадлежность	n	Распределение	Частота встречаемости					$\chi^2$
			генотипов,%			аллелей		
			AA	AB	BB	A	B	
РУП «Гродненское племпредприятие»	55	Факт.	65	35	–	0,827	0,173	2,29
		Ож.	69	29	2			

\*  $P < 0,05$ .

В ходе исследований выявлен полиморфизм гена каппа-казеина, представленный двумя аллелями: А и В. Идентифицированы генотипы AA и АВ. Анализ распределения генотипов в исследованных популяциях быков-производителей позволил установить преобладание животных генотипа CSN3<sup>AA</sup> (65%) над животными генотипа CSN3<sup>AB</sup> (35%), а генотип CSN3<sup>BB</sup> не был идентифицирован ни у одной головы. Соотношение частот аллеля А и В в популяции находится на уровне 0,827: 0,173 (табл. 2).

Использование критерия  $\chi^2$  позволило определить степень соответствия фактического распределения генотипов ожидаемому. В исследованной популяции наблюдалось генное равновесие по распределению частот генотипов. Это, очевидно, связано с тем, что селекция животных ведется на основе традиционных методов оценки молочной продуктивности, без учета генетических факторов, оказывающих существенное влияние на качественный состав молочных белков. Отсутствие у животных генотипа CSN3<sup>BB</sup>, влияющего на белковомолочность, вероятно, связано с отбором только по показателям продуктивности и жирномолочности.

Таким образом, при проведении селекции на повышение жирномолочности содержание белков в молоке в некоторой степени повышается, в связи с чем назрела необходимость проведения целенаправленного улучшения разводимого в Республике Беларусь крупного рогатого скота по белковомолочности.

Выражаем благодарность сотрудникам лаборатории ДНК-технологий РУП «Институт животноводства НАН Беларуси» в лице Епишко Татьяны Ивановны.

### **Литература**

1. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. М., 1984.
2. Denisourt D., Sabour M., McAlister A. Detection of bovine K-casein genomic variants by the polymerase chain reaction method // *Animal Genetics*. 1990. Vol. 21. P. 215–216.

*V. V. PIASHKO, L. A. TANANA*

### **THE ESTIMATION OF THE BULLS FOR SERVICE OF VARIOUS LINE SELECTIONS AT GRODNO BREEDING ENTERPRISE ACCORDING TO KAPPA-CASEIN GENE**

#### **Summary**

It has been discovered that the bulls for service at Grodno breeding enterprise have polymorphism of kappa-casein gene (CSN3) (the genotypes AA and AB). The genetic bulls of home and Western-European line selection of kappa-casein gene (CSN3) have been studied. The gene equilibrium has been analyzed.