

УДК: 636.2.082.12

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО ГЕНУ КАППА-КАЗЕИНА (CSN3)

Яцына О.А., Смунова В.К., Соболева В.Ф., Яцына В.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь

Исследования генетических процессов, протекающих в популяциях, имеют большое значение для дальнейшего познания эволюции с целью управления этими процессами при разведении сельскохозяйственных животных.

Researches of the genetic processes proceeding in populations, are of great importance for further knowledge of evolution for the purpose of management of these processes at cultivation of agricultural animals.

Введение. Каждая порода характеризуется определенной генетической структурой, которая выражается частотой аллелей каждого локуса и частотой гомозиготных и гетерозиготных генотипов.

В последнее время все больше внимания уделяется изучению антигенного состава крови, полиморфных генетических систем белков крови и других тканей организма животных и их использованию в качестве методов наиболее объективной оценки племенных достоинств животных и управления селекционными процессами [3, 5].

Дальнейший прогресс в разведении сельскохозяйственных животных может быть достигнут благодаря комбинированию традиционных селекционируемых параметров с молекулярно-генетической информацией о локусах количественных признаков – QTL. Последние являются наиболее предпочтительными для оценки генотипов и маркерной селекции в связи с меньшим влиянием рекомбинаций [1, 4, 8].

Выявление предпочтительных генов для селекции позволит дополнительно к традиционному отбору животных проводить селекцию непосредственно на уровне ДНК, то есть по их генотипу [2].

Главным направлением молекулярной генетики, основанным на использовании генов-маркеров, является изучение полиморфизма структурных генов, вносящих существенный вклад в формирование продуктивности и использование их в маркерной селекции. Для молочного скота это прежде всего гены каппа-казеина, лактоглобулинов молока, гены соматотропина, пролактина и др. типы некоторых генов, как, например, ген каппа-казеина, которые сейчас вносят в племенные документы, так как, с одной стороны, необходимо контролировать генетическое равновесие в популяциях по типам этого гена, с другой – некоторые типы гена влияют на количество белка в молоке [7].

Целью нашей работы было дать генетико-математический анализ современного состояния популяции белорусской черно-пестрой породы крупного рогатого скота с использованием полиморфизма гена каппа-казеина (CSN3).

Материал и методы исследований. Экспериментальная часть работы выполнялась в период с 2007 по 2011 год в УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». В РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству» проведено ДНК-тестирование быков-производителей и коров белорусской черно-пестрой породы различной селекции по гену каппа-казеина (CSN3) и изучение ассоциации полиморфных вариантов данного гена.

Базой для проведения исследования были РСУП «Витебское племпредприятие», СПК «Ольговское» Витебского района Витебской области.

Объектом исследований служили образцы ДНК коров белорусской черно-пестрой породы – 380 проб, пробы молока, крови, а также 83 спермадозы быков – производителей.

Ядерную ДНК выделяли перхлоратным методом.

ДНК-тестирование животных проводилось методом ПЦР-ПДРФ с использованием праймеров CAS1 и CAS2. Для проведения рестрикции применялась эндонуклеаза Hind III.

Структура популяции по полиморфным вариантам изучаемого гена использована нами для характеристики селекционных процессов, протекающих в изучаемой популяции, влияющих на частоту тех или иных аллелей, на частоту гомозиготных и гетерозиготных генотипов и на генное равновесие. Генетико-статистическими параметрами можно установить давление искусственного отбора, влияние методов разведения. Для выявления особенностей генетической структуры популяции по гену CSN3 нами использованы основные принципы и приемы популяционного анализа: вычисление генных частот и проверка генного равновесия с помощью закона Харди-Вайнберга.

Сравнение частот генотипов в обследованной популяции с ожидаемыми обнаруживает большое сходство. Отклонения обусловлены разными причинами. Чтобы проверить, действительно ли наблюдаемые частоты в данном поколении существенно отличаются от ожидаемых у потомков, применяют критерий χ^2 . Если величина χ^2 будет больше или равна величине, приведенной в специальной таблице [6], то наблюдаемые частоты достоверно отличаются от ожидаемых. Отклонения частот генотипов в популяции от значений, определенных законом Харди-Вайнберга, свидетельствуют о процессах, происходящих в популяции. Если различия незначительны, можно установить, что в данной популяции при отсутствии отбора частоты генов и генотипов от поколения к поколению не изменяются.

Результаты исследований. В наших исследованиях изучена генетическая структура популяции коров в СПК «Ольговское» Витебской области и быков-производителей РСУП «Витебское племпредприятие» по полиморфным вариантам гена каппа-казеина (CSN3). Результаты ДНК-

тестирования показали наличие полиморфизма по данному гену, представленному двумя аллелями: CSN3^A и CSN3^B.

Анализ частот встречаемости аллелей гена каппа-казеина в популяции коров показал превосходство в концентрации аллеля CSN3^A над аллелем CSN3^B. Частота аллеля CSN3^A составила 0,83, аллеля CSN3^B – 0,17.

Соотношение частот аллелей CSN3^A и CSN3^B в популяции быков - производителей – 0,886 и 0,114 соответственно.

Для проведения анализа генного равновесия в исследованных популяциях использован критерий χ^2 , который позволил определить степень соответствия фактического распределения генотипов его теоретическим значениям.

Так, по локусу гена каппа-казеина у быков-производителей χ^2 равен 1,264, в популяции коров белорусской черно-пестрой породы – 2,880 и не превышал табличного значения, что свидетельствует об отсутствии нарушения генетического равновесия в данных популяциях.

Теоретически ожидаемое число животных рассчитывалось исходя из установленной концентрации генов каппа-казеина (таблица 166).

Таблица 166 - Характеристика состояния популяции коров белорусской черно-пестрой породы и быков-производителей по распределению генотипов каппа-казеина

Группа животных	Параметры	Генотипы		
		AA	BB	AB
Коровы n=380	Теоретически ожидаемое число генотипов, голов	261,70	10,98	107,23
	Фактическое число генотипов, голов	264	16	100
Быки-производители n=83	Теоретически ожидаемое число генотипов, голов	65,10	1,07	16,76
	Фактическое число генотипов, голов	65	1	17

Теоретически ожидаемое число генотипов у коров белорусской черно-пестрой породы с генотипом CSN3^{AA} составило 261,70, CSN3^{AB} – 107,23 и CSN3^{BB} – 10,98. У коров фактическое число генотипов по гену каппа-казеина больше теоретически ожидаемых: по CSN3^{AA} на 2,3, CSN3^{BB} на 5,02. У гетерозиготных особей CSN3^{AB} теоретически ожидаемое число генотипов было выше фактического числа на 7,23. У быков-производителей этот показатель был 65,10 – с генотипом по гену CSN3^{AA}, 16,76 - CSN3^{AB}, 1,07 - CSN3^{BB}, фактическое число генотипов отличалось незначительно. Это свидетельствует о том, что популяция находится в равновесном состоянии.

Нами рассчитан коэффициент гомозиготности, уровень полиморфности, тест гетерозиготности и степень реализации возможной изменчивости (таблица 167).

Таблица 167 - Основные параметры популяции коров белорусской черно-пестрой породы и быков-производителей по гену каппа – казеина

Параметры	Коровы (n=380)	Быки-производители (n=83)
Коэффициент гомозиготности (Ca)	0,72	0,79
Уровень полиморфности локуса (Na)	1,38	1,26
Степень реализации возможной изменчивости в локусе (V)	28,9	22,4
Тест гетерозиготности по локусу (Т.Г.)	- 3,6	1,25

Обращает на себя внимание характерный недостаток гомозигот CSN3^{BB}, гетерозигот CSN3^{AB} и избыток гомозигот CSN3^{AA} в группе коров белорусской черно-пестрой породы. Относительная степень гомозиготности в этой популяции равна 0,72, что свидетельствует о том, что популяция однородна. Уровень полиморфности, т.е. число действующих эффективных аллелей в популяции, составил 1,38. Это указывает на то, что число действующих аллелей в популяции для данного локуса меньше возможного (2,0). Степень реализации возможной изменчивости по гену каппа-казеина составляет 28,9 %. Тест гетерозиготности по локусу (-3,6) показал, что в данной популяции доля фактических гетерозигот меньше доли теоретических, т.е. наблюдается недостаток гетерозигот.

Относительная степень гомозиготности (Ca) изученной популяции быков-производителей равна 0,79. Увеличение степени гомозиготности сопровождается снижением генетического и фенотипического разнообразия и приводит к повышению однородности популяции.

Уровень полиморфности (Na), т.е. число действующих эффективных аллелей, составил 1,26. Это свидетельствует о том, что число действующих аллелей в популяции для данного локуса меньше возможного. Увеличение степени гомозиготности сопровождается уменьшением числа эффективных

аллелей, снижением генетического и фенотипического разнообразия и приводит к повышению однородности популяции. При отсутствии полиморфизма эта величина будет равна 1.

Степень реализации возможной изменчивости (V) по локусу каппа-казеина составила 22,4 %. Это указывает на то, что возможная изменчивость реализована. Тест гетерозиготности (Т.Г.) отражает состояние популяции по соотношению гетерозиготных генотипов и может быть величиной отрицательной, если доля фактических гетерозигот меньше доли теоретических, или положительной, что свидетельствует об избытке гетерозигот. Тест гетерозиготности (1,25) показал, что в данной популяции доля фактических гетерозигот меньше доли теоретических, т.е. наблюдается недостаток гетерозигот, как и отмечалось выше. Это может привести к усилению однородности популяции по данному локусу.

Приведенные нами данные свидетельствуют о том, что в изученной популяции наблюдается недостаток гетерозигот по гену CSN3^{AB} и гомозиготного генотипа CSN3^{BB}, что указывает на осуществляемый в популяции специфический отбор и подбор.

Величина генетического сходства (r) выражается в долях единицы и может принимать значение от 0 до 1. Чем больше величина r, тем больше сходство между сопоставляемыми популяциями по локусам, вошедшим в обработку [6]. Рассчитанный нами коэффициент генетического сходства между популяциями быков-производителей и коров равен 0,99, что свидетельствует о большом сходстве между двумя сопоставляемыми популяциями.

Генетическая структура исследованных популяций по локусу гена каппа - казеина представлена в таблице 168.

Таблица 168 - Генетическая структура популяций быков-производителей и коров по гену каппа-казеина, %.

Группа животных	n	Частота встречаемости генотипов					
		AA	AB	BB	AA	AB	BB
Коровы	380	264	69,5	100	26,3	16	4,2
Быки-производители	83	65	78,3	17	20,5	1	1,2

Распределение коров по генотипам было следующее: 264 животных, или 69,5 % имели генотип CSN3^{AA} (ответственный за синтез белка А каппа-казеина); 100 животных, либо 26,3 %, имели генотип CSN3^{AB} (белок, который сочетает в себе свойства А и В белков каппа-казеина); 16 животных, либо 4,2 % – генотип CSN3^{BB} (генотип, ответственный за белок В каппа-казеина).

Среди протестированных быков-производителей частота встречаемости животных с гомозиготным генотипом CSN3^{AA} составила - 78,3 %, с гетерозиготным CSN3^{AB} – 20,5 % и 1 животное – 1,2 % с гомозиготным CSN3^{BB}.

Использование формулы Харди-Вайнберга позволило установить, что в данных популяциях генетическое равновесие смещено в сторону гомозиготного генотипа CSN3^{AA}. Причиной такого несоответствия может быть проведение мероприятий отбора животных по признаку увеличения удоя у коров без учета белкомолочности.

Закключение. Для улучшения племенных и продуктивных качеств животных необходимо изучать генотипы не только отдельных индивидуумов, но и генетическую структуру всего стада, породы в целом. Исследования генетических процессов, протекающих в популяциях, имеют большое значение для дальнейшего познания эволюции с целью управления этими процессами при разведении сельскохозяйственных животных.

Литература: 1. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных / Н.А. Зиновьева [и др.]. – ВИЖ, 2002 – 122 с. 2. Галлямова, А. Каппа-казеин – важнейший селекционный критерий в молочном скотоводстве / А. Галлямова, С. Исламова // Молочное и мясное скотоводство. – 2008. – № 2. – С. 17–18. 3. Зиновьева, Н.А. Некоторые аспекты генодиагностики генетической устойчивости кур к вирусу птичьего гриппа / Н.А. Зиновьева, С.А. Гладырь, Л.К. Эрнст // Новые методы генодиагностики и генотерапии: современное состояние и перспективы использования в сохранении генофонда сельскохозяйственных животных / Центр биотехнологии и молекулярной диагностики ВИЖ. – Дубровицы, 2005.– С. 79–81. 4. Использование ДНК-технологий в селекции сельскохозяйственных животных / И.П. Шейко [и др.] // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник научных трудов / Белорусская государственная сельскохозяйственная академия. – Горки, 2005. – Вып. 8, ч. 2. – С. 219–222. 5. Лавровский, В.В. Оценка генетического разнообразия быков-производителей по генам каппа-казеина, *BoLA-DRB 3* и полиморфным белкам крови и их дочерей / В.В. Лавровский, Л.В. Денисенко // Стратегия развития животноводства России – 21 век / Российская академия сельскохозяйственных наук. – Москва, 2001. – Ч. 1. – С. 264–273. 6. Меркурьева, Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е.К. Меркурьева. – Москва : Колос. –1977. – 240 с. 7. Dekkers, J. C. M. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons / J. C. M. Dekkers // J. Animal Sciens. – 2004. – Vol. 82. – P. 313-328. 8. Polymorphism of molekular-genetic systems in the polish red cattle / A. Klauzinska [et al.] // Cytology and genetic. – 2001. – № 1. – P. 58-60.

Статья передана в печать 26.03.2013