

ЛОКИД-Пресс, 2005. – 302 с. 7. Сулимов, К.Т. Подготовка и применение собак для поиска некоторых наркотических веществ / К.Т. Сулимов; под ред. Л.В. Крушинского. – Москва: ВНИИ МВД СССР, 1970. – 42 с. 8. Сушко, Е. Кинологический центр пограничных войск / Е. Сушко // Собачья жизнь. – 2004. - № 5. - с. 18-19.

Статья поступила 19.02.2010 г.

УДК: 336.2.082.12

ПЛЕЙОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА (CSN3) НА ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЕ КАЧЕСТВА БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Епишко Т.И.

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

Яцына О.А., Смунова В.К., Яцына В.В.

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

Изучены показатели оплодотворяющей способности и продуктивности матерей быков-производителей различных генотипов по гену каппа-казеина (CSN3).

Fertilizing and producing capacity indices of different gene types beef herd sires dams were studied according to CSN3 casein gene.

Введение. В Республике Беларусь на протяжении длительного периода для совершенствования отечественного черно-пестрого скота используется генофонд лучшей на сегодня в мире молочной породы – голштинской. Однако разнообразие в выборе импортируемых быков не всегда позитивно отражается на качестве улучшаемого отечественного поголовья, поэтому при закупке импортных быков встает проблема получения, оценки и отбора быков, наиболее пригодных для использования в конкретных хозяйственных условиях.

Одним из наиболее важных экономических показателей в молочном скотоводстве является содержание белка в молоке и его структура. Исследования по поиску генетических маркеров, связанных с белково-молочностью, проводимые рядом ученых, свидетельствуют о наличии взаимосвязи содержания белка в молоке с аллельным состоянием гена каппа-казеина (CSN3). Установлено, что молоко, полученное от животных с генотипом CSN^{BB}, имеет ряд преимуществ по технологическим параметрам для производства белково-молочных продуктов [1,4,7,11].

Во многих развитых странах селекция на В-аллель CSN3 включена в селекционные программы по разведению крупного рогатого скота [10].

Оценка животных по количественным признакам является наиболее сложной, так как эти признаки обусловлены полигенным характером, сложными расщеплениями и рекомбинацией генов.

Племенная ценность животных в молочном скотоводстве оценивается по продуктивности родителей и предков, самого животного. Эта информация оцениваемого животного всегда использовалась в практической селекции для отбора и подбора родительских пар. Причиной такой связи между родственниками является наличие у них общих генов.

В молочном скотоводстве первой информацией является продуктивность родителей и в меньшей степени – остальных предков. Каждая особь получает все наследственные задатки от своих родителей и не может их получить от более дальних предков. [3].

Селекция по генотипу способствует идентификации и быстрому введению предпочтительных аллелей в популяции реципиентов с целью повышения продуктивности улучшаемых пород животных. Так, многие ученые отмечают, что с помощью ДНК-диагностики можно определить наличие гена в клетке, генотип еще не родившегося приплода, получить желаемый генотип, диагностировать дефекты и т.д. [6].

Современные молекулярно-генетические методы выявляют аллельные варианты генов по последовательности ДНК, кодирующих синтез молочных белков и их сочетания в генотипе сельскохозяйственных животных любого пола и возраста [2].

Вследствие широкого использования в практике скотоводства метода искусственного осеменения, большое значение имеет оценка быков-производителей по воспроизводительной способности и качеству получаемой от них спермопродукции.

Использование генетических маркеров в качестве критериев при решении вопросов отбора и подбора сельскохозяйственных животных призвано обеспечить ускорение селекционного процесса и повысить его эффективность. [8]

Поэтому актуальной является разработка метода ДНК-диагностики генотипов молочного белка (каппа-казеина) крупного рогатого скота как генетического маркера, связанного с молочной продуктивностью крупного рогатого скота и содержанием белка в молоке, а также позволяет прогнозировать проявление количественных признаков животных в раннем возрасте.

Цель работы – изучение полиморфизма гена каппа-казеина и его ассоциации с воспроизводительными качествами быков-производителей.

Для выполнения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

- изучить полиморфизм гена каппа-казеина в популяции быков-производителей;
- изучить ассоциацию полиморфных вариантов гена каппа-казеина с оплодотворяющей способностью;
- изучить ассоциацию полиморфных вариантов гена каппа-казеина с продуктивными качествами матерей быков-производителей.

Материал и методика исследований. Исследования выполнены в течение 2007-2009 гг. на базе УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», РУП «Витебское племпредприятие», РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству»

Для исследования генетических вариантов гена каппа-казеина использовали глубокомороженную сперму – 83 биопробы быков-производителей, принадлежащих РУП «Витебское племпредприятие».

ДНК-тестирование животных проводилось методом полимеразой цепной реакции (ПЦР) и последующего анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) с использованием праймеров: CAS1 и CAS2:

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

CAS2: 5' - TTT ATT AAT AAG TCC ATG AAT CTT G -3'

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.

Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 1 x Taq-буфер, 2 mM дНТФ (4 x 0,5 mM каждого), 10 пМ каждого праймера, 1,5 ед. акт. Taq-полимеразы, 100-200 нг геномной ДНК.

Для проведения рестрикции применялась эндонуклеаза HindIII.

Результаты расщепления продуктов ПЦР-ПДРФ 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.

Частоты встречаемости генотипов и аллелей при двухаллельной системе локуса гена CSN3, а также генетическое равновесие в популяции крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы рассчитывали по Е.К. Меркурьевой [5]:

$$pA = \frac{2AA + AB}{2n};$$

$$qB = \frac{2BB + AB}{2n};$$

где: p – частота аллеля А;

q – частота аллеля В;

AA, BB - число особей с гомозиготным генотипом;

AB - число особей с гетерозиготным генотипом;

n – общее число особей.

Расчет теоретически ожидаемых частот генотипов рассчитывали по формуле Харди-Вайнберга:

$$p^2AA + 2pqAB + q^2BB = 1,$$

где: p – частота аллеля А;

q – частота аллеля В;

p^2 – частота гомозиготных генотипов AA;

q^2 – частота гомозиготных генотипов BB;

2pq – частота гетерозиготных генотипов АВ.

С помощью метода χ^2 определяли достоверность отличия фактических частот генотипов от ожидаемых:

$$\chi^2 = \sum \frac{(p \text{ эмп.} - p \text{ теор.})^2}{p \text{ теор.}};$$

где: χ^2 – критерий соответствия;

p эмп. – фактическое количество особей данного генотипа, полученное в опыте;

p теор. – теоретически ожидаемое количество особей данного генотипа.

Результаты исследований и их обсуждение. Изучен полиморфизм гена CSN3 и его ассоциации с воспроизводительными качествами быков-производителей.

Для изучения генетической структуры популяции быков-производителей по гену каппа-казеина, используемых на Витебском племпредприятии, нами было проведено ДНК-тестирование методом ПЦР-ПДРФ (83 головы).

Результаты тестирования выявили наличие полиморфизма по данному гену, представленного двумя аллелями: CSN^A и CSN^B (таблица 1).

Таблица 1 – Частота встречаемости аллелей гена каппа-казеина быков-производителей РУП «Витебское племпредприятие».

Возрастная группа	n	Частота встречаемости аллелей		χ^2
		A	B	
Быки-производители	83	0,886	0,114	1,264

Анализируя таблицу 1 выявлено, что носителями аллеля CSN^A являются 88,6 % быков, и лишь 11,4 % животных имело в своем генотипе желательный аллель CSN^B.

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 у быков-производителей χ^2 равен 1,264, что свидетельствует об отсутствии нарушения генетического равновесия в данной популяции.

Генетическая структура популяции быков-производителей представлена в таблице 2.

Частота гомозиготных генотипов: CSN^{AA} составила 78,3 % CSN^{BB} – 1,2 %, гетерозиготного CSN^{AB} – 20,5%. Использование статистического метода Харди-Вайнберга позволило установить, что в данной популяции генетическое равновесие смещено в сторону нежелательного гомозиготного генотипа CSN^{AA} .

Таблица 2 – Генетическая структура популяции быков-производителей по гену каппа-казеина, %

Возрастная группа	n	Частота встречаемости генотипов					
		n	AA	n	AB	n	BB
Быки-производители	83	65	78,3	17	20,5	1	1,2

Причиной такого несоответствия может быть проведение мероприятий по отбору животных по какому-либо признаку.

Для изучения ассоциации полиморфных вариантов гена $CSN3$ с воспроизводительными качествами и показателями продуктивности матерей быков-производителей, принадлежащих РУП «Витебское племпредприятие», проведена оценка следующих показателей: процент оплодотворения (%), продуктивность матерей быков-производителей по удою за наивысшую лактацию (кг), содержанию жира и белка (%), количеству молочного жира и молочного белка (кг) в молоке матерей быков.

Таблица 3 – Характеристика быков-производителей с различными генотипами по гену каппа-казеина по воспроизводительной способности и продуктивности матерей

Показатели	Генотипы		
	AA	AB	BB
Количество быков-производителей	n=65	n=17	n=1
Оплодотворяющая способность, %	62,6±0,85	64,0±1,38	70,2
σ , %	6,9±0,60	5,7±0,97	
Sv , %	11,05±0,96	8,9±1,52	
Продуктивность матерей:			
Удой, кг	10691±1177,33	9195±278,40	8376
σ , кг	9491,9±832,5	1147,8±196,85	
Sv , %	88,78±7,78	12,48±2,14	
Жир, %	4,04±0,02	4,05±0,07	3,94
σ , %	0,20±0,01	0,31±0,05	
Sv , %	5,14±0,45	7,83±1,34	
Молочный жир, кг	384,6±7,5	373,5±14,7	330,0
σ , кг	60,53±5,30	60,8±10,43	
Sv , %	15,73±1,38	16,28±2,79	
Белок, %	3,22±0,01	3,28±0,04	3,05
σ , %	0,15±0,01	0,17±0,03	
Sv , %	4,66±0,40	5,25±0,90	
Молочный белок, кг	306,4±5,6	302,2±10,1	255,4
σ , кг	45,87±4,02	41,74±7,15	
Sv , %	14,96±1,31	13,81±2,3	

Анализ средних значений показателей оплодотворяющей способности быков-производителей генотипов $CSN3^{AA}$, $CSN3^{AB}$ и $CSN3^{BB}$ не выявил наличие статистически достоверных различий между изученными показателями у животных различных генотипов по локусу гена каппа-казеина. Более высокий процент оплодотворения, выявленный у животных генотипа $CSN3^{BB}$, не носил достоверного характера в связи с малым количеством животных.

Показатели продуктивности матерей быков-производителей с гетерозиготным генотипом $CSN3^{AB}$ были выше по содержанию жира и белка в молоке (%) – на 0,01 %, 0,06 % соответственно по сравнению с $CSN3^{AA}$. Матери быков-производителей с гомозиготным генотипом $CSN3^{AA}$ опережали матерей быков с $CSN3^{AB}$ по удою – на 1496 кг, молочному жиру – на 11,1 кг и молочному белку – 4,2 кг.

Для успешной селекционной работы очень важно знать об изменчивости тех или иных хозяйственных признаков. С этой целью нами рассчитан коэффициент изменчивости (таблица 3).

Наиболее высокие коэффициенты изменчивости выявлены у животных с гомозиготным генотипом $CSN3^{AA}$ по оплодотворяющей способности – 11,05 %; по удою матерей быков-производителей – 88,78 %; молочному белку – 14,96 % в сравнении с животными генотипа $CSN3^{AB}$. У животных с гетерозиготным генотипом $CSN3^{AB}$ значения коэффициентов вариации были выше по жиру на 7,3 %, незначительно выше по молочному жиру и белку.

Заключение. В результате исследований проанализирована генетическая структура популяции быков-производителей РУП «Витебское племпредприятие». В результате генотипирования гена каппа-казеина методом ДНК-диагностики выявлено три генотипа – $CSN3^{AA}$, $CSN3^{AB}$, $CSN3^{BB}$. Частота встречаемости гомозиготного генотипа $CSN3^{AA}$ у быков-производителей – 87,3 %; гетерозиготного $CSN3^{AB}$ – 20,5 %; гомозиготного $CSN3^{BB}$ – 1,2 %.

Изучены показатели оплодотворяющей способности и продуктивности матерей быков-производителей различных генотипов по гену каппа-казеина. Статистически достоверной разницы между этими показателями в зависимости от генотипа не установлено.

Таким образом, не установлена достоверная связь между показателями оплодотворяющей способности и продуктивностью матерей быков-производителей и их генотипом по локусу гена каппа-казеина, что указывает на отсутствие влияния последнего на данные показатели и дает возможность вести селекцию по гену CSN3 без снижения племенной ценности производителей по воспроизводительным качествам.

Литература. 1. Влияние локуса каппа-казеина на продуктивность коров / Б. Иолчев [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. - 2003. - № 3. - С.34-35. 2. Глазко, В.И. Современный этап селекционной работы и ДНК-технологии. / В.И. Глазко // Молекулярные механизмы генетических процессов и биотехнология. Международный симпозиум.- Москва 18-21 ноября, Минск 22-24 ноября.- 2001.- С. 34-36. 3. Завертяев, Б.П. Генетические методы оценки племенных качеств молочного скота / Б.П. Завертяев // Ленинград.- Агропромиздат.- 1986.-256. (С-142-153). 4. 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 // Москва - 2004. - С. 7-22. 5. Меркурьева Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных. / М.-1970 С. 423. 6. Метод ДНК-диагностики для маркирования животных по локусу каппа-казеина. / Т. Миносян [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. - 2003. - № 3. - С. 38-40. 7. Пешко, В.В. Ассоциация полиморфизма гена каппа-казеина с качественными и технологическими показателями молока коров красной белорусской породной группы / В.В. Пешко // Молодежь в науке – 2007. Приложение к журналу Известия Нац. акад. наук Беларуси. Сер. аграр. наук. – 2007. – Ч. 4. – С. 289-292. 8. Прохоренко, П.Н. Прошлое, настоящее, и будущее генетики и селекции в животноводстве. / П.Н. Прохоренко // Зоотехния.-2008.-№1.-С. 8-10). 9. Pedersen, J Selection on increase frequency of kappa-casein variant B in dairy cattle / J.Pedersen // J. Anim. Breed. Genet.-1991.-V.1082.-P. 434-445. 10. 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. 11. Pedersen, J Selection on increase frequency of kappa-casein variant B in dairy cattle / J.Pedersen // J. Anim. Breed. Genet.-1991.-V.1082.-P. 434-445.

Статья поступила 26.02.2010 г.

УДК 636.13.082

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОБЫЛ ТРАКЕНЕНСКОЙ ПОРОДЫ ПО КОНСТИТУЦИИ И ЭКСТЕРЬЕРУ

Зяц О.В., Малыга А.В.

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

В ходе исследований была проведена оценка кобыл маточного поголовья траккененской породы в разрезе шести основных линий, разводимых в Республиканском центре олимпийской подготовки лошадей и коневодства. Кобылы были оценены по экстерьеру, происхождению, качеству потомства и промерам, на основании которых были рассчитаны индексы массивности и костистости.

During researches the estimation of mares' маточного a livestock trakenenskoj breeds in a cut of six basic lines planted in the Republican centre of Olympic preparation of horses and horse breeding has been spent. Mares have been estimated on an ex-terrier, an origin, quality of posterity and measurements on which basis indexes of massiveness and костистости have been calculated.

Введение. Основной целью развития коневодческой отрасли на перспективу является обеспечение сельскохозяйственных, спортивных и других организаций высококачественными лошадьми. Развитие спортивного коннозаводства характеризуется постоянно растущим спросом на высококлассную лошадь.

Одним из основных направлений племенного коннозаводства в Беларуси является спортивное. Лошади верховых пород в Республике Беларусь в последнее время стали всё чаще использоваться для зрелищных спортивных соревнований, для туристических поездок и лечебной верховой езды. Верховые лошади спортивного типа, прошедшие специальный индивидуальный тренинг, испытания и показавшие хорошие результаты в соревнованиях, достаточно высоко ценятся и пользуются большим спросом на международных аукционах [1,2,4].

В стране ведется племенная работа с целым рядом спортивных пород. Наиболее распространенной в конном спорте является траккененская порода.

По уровню выступления в классических видах конного спорта лошади белорусского разведения уступают лошадям европейской селекции, что делает необходимым интенсификацию племенной работы и определение количественной оценки влияния различных факторов на проявление хозяйственно – полезных признаков лошадей [5,7].

Одним из важных селекционируемых признаков в полукровном коневодстве является экстерьер спортивной лошади, в том числе ее калибр и тип сложения. Калибр лошади характеризуется ее ростом (высотой в холке). Промеры обхвата груди и пясти отражают развитие грудной клетки и костяка. Относительными показателями, определяющими эти признаки, являются индексы массивности и костистости. Селекционная работа с большинством верховых пород направлена на увеличение роста лошадей при сохранении достаточной массивности и костистости. Для обеспечения выполнения этой задачи необходим отбор в племенной состав только достаточно развитых крупных жеребцов и маток, с достаточным запасом массивности и костистости.

Поэтому основной задачей отбора является непрерывное улучшение спортивных качеств лошадей, осуществляемое путем направленного воспроизводства, выращивания и широкого использования лучших по