

востью, доходящей до 62,7%, что является следствием разновозрастного состава и становлением продуктивности.

Таблица 2 — Коэффициенты изменчивости признаков оценки качества спермопродукции

Породы	n	Коэффициенты изменчивости, %		
		объем эякулята	концентрация	подвижность
до 7 месяцев				
Дюрок	10	17,8±4,2	32,6±8,1	18,0±4,3
Ландрас	26	34,3±4,8	38,9±5,4	6,3±0,9
Йоркшир	18	29,9±5,0	30,2±5,0	11,1±1,9
7-10 месяцев				
Дюрок	175	31,5±1,7	40,5±2,2	9,5±0,5
Ландрас	227	44,0±2,1	41,2±1,9	10,7±0,5
Йоркшир	320	37,1±1,5	42,7±1,7	18,4±0,7
10-12 месяцев				
Дюрок	414	27,9±1,0	43,4±1,5	13,5±0,5
Ландрас	653	36,0±1,0	43,0±1,2	8,2±0,2
Йоркшир	826	32,7±0,8	40,7±1,0	16,3±0,4
12 месяцев и старше				
Дюрок	145	27,9±1,6	36,8±2,1	19,8±1,1
Ландрас	929	62,7±1,4	46,1±1,1	8,3±0,2
Йоркшир	940	33,9±0,8	40,7±0,9	7,8±0,2

**Заключение.** Самым низким объемом эякулята характеризовались хряки породы дюрок, однако количество спермиев в эякуляте у данных животных в 10-месячном возрасте и старше было самым высоким - 92,6 млрд., что позволило данным животным занять первое место по количеству спермиев в эякуляте. Данный показатель у хряков ландрас и дюрок в возрасте 12 месяцев и старше был ниже на 15,1-16,3 млрд., и соответственно составил 77,5 и 76,3 млрд. Высокая изменчивость признаков оценки качества спермопродукции обусловлена тем, что исследования проводились в период формирования продуктивности по всему поголовью хряков по данным зоотехнического учета.

Таким образом можно заключить, что показатели качества спермопродукции хряков-производителей породы йоркшир, ландрас и дюрок датской селекции в значительной степени зависят от породной принадлежности и имеют высокую вариабельность.

**Литература.** 1. Васильева, Э.Г. Совершенствование селекционно-племенной работы / Э.Г. Васильева // Промышленное и племенное свиноводство. - 2007. - №1. - С. 18-21 2. Козловский, В.Г. Племенное дело в свиноводстве / В.Г. Козловский [и др.]. - М.: Колос, 1982. - С. 272 3. Садовничий, А.М. Эффективность использования хряков породы дюрок на промежуточном и заключительном этапах промышленного скрещивания: автореф. дис... канд. с.-х. наук. - Жодино, 2001. - С. 20 4. Ухвертов, А.Н. Ландрасы немецкой селекции в Среднем Поволжье. / А.Н. Ухвертов // Свиноводство. - 1999. - №5. - С. 14-16 5. Федоренкова, Л.А. Селекционно - генетические основы выведения белорусской мясной породы свиней / Л.А. Федоренкова, Р.И. Шейко // Белорусское издательское Товарищество «Хата». - Мн. 2006. - С.214 6. Шейко, И.П. Особенности адаптации импортных хряков породы ландрас в условиях промышленной технологии / И.П. Шейко, Т.Н. Тимошенко, Е.А. Янович // Перспективы развития свиноводства. Материалы 10-й междунар. Науч.-практич. конф. - Гродно, 2003. - С.11-13 7. Шейко, И.П. Влияние гибридных хряков на откормочную и мясную продуктивность товарных гибридов / И.П. Шейко, Н.М. Храмченко // Фундаментальные и прикладные проблемы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных в изменившихся условиях системы хозяйствования и экологии: сб. науч. тр. по материалам междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию юбилею заслуж. деят. науки РФ, проф. В.Е. Улитко (14-16 января 2005г.). - Ульяновск, 2005. - Т.1. - С.284-289 8. Шилкина, К.В. Что же такое стресс / К.В. Шилкина // Промышленное и племенное свиноводство. - 2005. - №4. - С.42-43 9. Янович, Е.А. Акклиматизационные особенности хряков породы ландрас немецкой селекции в условиях Беларуси / Е.А. Янович // Зоотехническая наука Беларуси. Сб научных трудов. - Мн. 2003. - Т.38. - С.119-123 10. Kunc J., Mrkun J., Kosec M. Comparison of boars reproduction ability between different breeds 14 th International Congress on Animal Reproduction. - P. 308.

УДК: 336.2.082.12

### ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА (CSN3) В ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ

Яцына О.А.\*, Епишко Т.И.\*\*\*, Смунова В.К.\*

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

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

Определены частоты аллелей и генотипов гена каппа-казеина (CSN3) у крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы методом ПЦР-ПДРФ анализа. Типирование А- и В- аллелей CSN3 представляет практический интерес, поскольку В-аллель коррелирует с ценными показателями молочной продуктивности (белковомолочностью, удойностью). Частоты В-аллеля CSN3 в исследованных породах варьируют от 0 до 0,23.

*The frequencies of the gene (CSN3) alleles and genotypes have been defined in cattle of Byelorussian Black-white breed by PCR-RFLP analysis. Typing alleles A- and B- of CSN3 is of practical importance, because allele B is correlated with commercially valuable parameters of milk productivity (protein content and milk yield). The frequencies of the B allele of CSN3 in the breed studied vary from 0 to 0,23.*

**Введение.** Значительную помощь в селекции молочного скота может оказать генетическая информация об аллельных вариантах генов, кодирующих синтез молочных белков и их сочетания в геноме.

Среди известных генов, отвечающих за продуктивные качества животных, исследователей привлекает ген каппа-казеина (CSN3), однозначно связанный с признаками белково-молочности и технологическими свойствами молока. В-аллель ассоциирован с более высоким содержанием белка в молоке, показателями молочной продуктивности (удоем) и технологическими свойствами молока при производстве белково-молочных продуктов [6]. Практика показывает, что более твердые сыры могут быть изготовлены из молока, полученного от коров, имеющих генотип CSN3<sup>BB</sup> [1]. Для повышения признаков белково-молочности и технологических свойств молока в зарубежных странах ведется маркирование племенных животных по гену каппа-казеина [7,9,10].

Ряд авторов [5, 9, 10, 11] констатирует, что среди разводимых пород самым низким содержанием белка в молоке характеризуются коровы черно-пестрой породы (2,89 - 3,17 %). Лучшие показатели белковости молока отмечены у коров джерсейской породы (3,97-4,27%). Так, по данным экспертов США, выход сыра «чеддер» из 100 кг молока от голштинских коров составил 9,99%, тогда как по бурой швицкой породе этот показатель равен 11,07%, а джерсейской – 12,35%. У черно-пестрых пород в результате голштинизации этот показатель снизился с 12 до 9 % [4].

В литературе имеются сведения о влиянии скрещивания животных различных линий чёрно-пёстрой породы на содержание белка в молоке потомков, то есть по сочетаемости различных линий. Различается белково-молочность разных стад, разных семейств, разных линий чёрно-пёстрого скота, а также белково-молочность дочерей различных быков-производителей. [8].

Современные молекулярно-генетические методы выявляют аллельные варианты генов по последовательности ДНК, кодирующих синтез молочных белков и их сочетанию в генотипе сельскохозяйственных животных любого пола и возраста [3].

*Цель работы:* определить генетическую структуру различных линий популяции крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы по локусу гена каппа-казеина.

**Материал и методы.** Исследования проведены в течение 2007-2008 гг. в УО «Витебская государственная ордена «Знак Почета» академия ветеринарной медицины», РСУП «Витебское племпредприятие», СПК «Ольговское» Витебского района Витебской области, РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству».

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

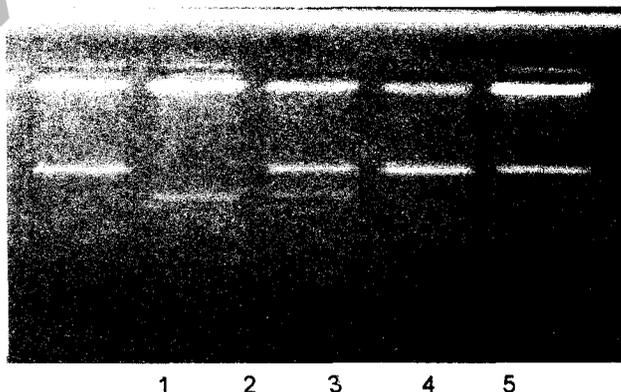
ДНК-тестирование животных проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и последующего анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

Аmplификацию осуществляли с использованием праймеров: CAS1: 5' -ATA GCC AAA TAT ATC CCA ATT CAG T- 3' и CAS2: 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.

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.

Продукты расщепления амплификата рестриктазой HindIII представлены на рисунке 1.



**Рисунок 1 - Рестрикция амплификатов (№ 1-5), полученных с помощью лизиса, проведенного в течение 8-10 часов с использованием рестриктазы HindIII. Электрофорез проводили в 2% агарозном геле, 30 мин, 130 В.**

Дорожки 1, 4, 5 – генотип CSN3<sup>AA</sup> – фрагмент 530 п.о.  
 Дорожка 3 – генотип CSN3<sup>AB</sup> – фрагменты 530, 400 и 130 п.о.  
 Дорожка 2 – генотип CSN3<sup>BB</sup> - фрагменты 400 и 130 п.о.

Частоты встречаемости генотипов и аллелей в изучаемых популяциях, а также генетическое равновесие по данному гену рассчитано по формуле Харди-Вайнберга:

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

где:  $p$  – частота аллеля А;  
 $q$  – частота аллеля В;  
 $p^2$  – частота гомозиготных генотипов АА;  
 $q^2$  – частота гомозиготных генотипов ВВ;  
 $2pq$  – частота гетерозиготных генотипов АВ.

С помощью метода  $\chi^2$  определяли достоверность отличия фактических частот генотипов от ожидаемых:

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

где:  $s^2$  – критерий соответствия;  
 $p_{\text{эмп.}}$  – фактическое количество особей данного генотипа, полученное в опыте;  
 $p_{\text{теор.}}$  – теоретически ожидаемое количество особей данного генотипа.

**Результаты исследований.** Изучены показатели 380 коров белорусской черно-пестрой породы по локусу каппа-казеина.

У коров были проведены исследования генетической структуры популяции на линейном уровне. Теоретически ожидаемое число животных рассчитывали, исходя из установленной концентрации генов каппа-казеина.

К голштинским линиям относилось 75 % коров, к голландским – 25 %. Наибольшее количество коров относится к голштинским линиям Вис Айдиала 933122 (36,6 %), Рефлекшн Соверинга 198998 (32,1 %).

С помощью эндонуклеазы *HindIII* в препаратах ДНК выявлено два аллеля каппа-казеина: А и В (таблица 1). Диагностировано наличие трех генотипов -  $CSN3^{AA}$ ,  $CSN3^{AB}$ ,  $CSN3^{BB}$ .

Проведенный анализ популяции коров линий голландского и голштинского корня показал, что частота встречаемости аллеля  $CSN3^B$  в среднем по линиям составляет 17 %; однако более низкая концентрация аллеля  $CSN3^B$  прослеживалась у коров голландского корня - 15 %. Частота встречаемости данного аллеля по линиям голштинского корня составила 18 %.

Наименьшая концентрация аллеля  $CSN3^B$  наблюдалась у коров голландских линий Рутьес Эдуарда 2,31646 (4 %) и Нико 31652,31831 (8 %), наивысшая - в линиях Аннас Адема 30587 и Монтвик Чифтейна 95679 – 31 % и 23 %, соответственно.

Таблица 1- Частота встречаемости аллелей по локусу гена каппа-казеина у коров различных линий

Породная и линейная принадлежность	n	%	Частота аллелей		$\chi^2$
			A	B	
<b>Голландские линии:</b>					
Аннас Адема 30587	26	6,8	0,69	0,31	0,8
Нико 31652,31831	43	11,3	0,92	0,08	1,5
Рутьес Эдуарда 2,31646	13	3,4	0,96	0,04	0,02
Хильтьес Адема 37910	13	3,4	0,85	0,15	2,18
В среднем:	95	25,0	0,85	0,15	2,41
<b>Голштинские линии:</b>					
Вис Айдиал 933122	139	36,5	0,85	0,15	0,0168
Рефлекшн Соверинга 198998	122	32,1	0,79	0,21	1,74
Монтвик Чифтейна 95679	22	5,8	0,77	0,23	0,22
Силинг Трайджун Рокита 252803	2	0,5	1	0	0
В среднем:	285	75,0	0,82	0,18	1,06
В среднем по всем линиям:	380	100	0,83	0,17	2,8

С целью изучения племенных ресурсов быков-производителей РСУП «Витебское племпредприятие» по гену каппа-казеина нами установлены частоты встречаемости аллелей у производителей разных линий (таблица 2).

На РСУП «Витебское племпредприятие» используются быки белорусской черно-пестрой, голштинской, британо-фризской и герефордской пород, что составляет 24,1 %, 10,8 %, 62,6 % и 2,4, соответственно. Наибольшее распространение имеют быки-производители линий Монтвик Чифтейна 95679 (26,5 %) и Вис Айдиала 933122 (13,35 %).

Выявлено, что носителями аллеля  $CSN3^A$  являются 88,6 % быков, и лишь 11,4 % животных имело в своем генотипе желательный аллель  $CSN3^B$ . Наибольшее количество животных, которые имеют в своем геноме аллель  $CSN3^B$  принадлежат к британо-фризской породе и относятся к линии Пабст Говернера 882933 – 23 %. В среднем этот показатель по черно-пестрым быкам-производителям составляет – 7,5 %, по голштинским – 12 %. У животных принадлежащих к герефордской породе данного аллеля не обнаружено.

Для проведения анализа генного равновесия в исследованных популяциях использован критерий  $\chi^2$ , который позволил определить степень соответствия фактического распределения генотипов его теоретическим значениям. Так, по локусу гена каппа-казеина у быков-производителей  $\chi^2$  равен 0,07, в популяции коров белорусской черно-пестрой породы 2,8 и не превышал табличного значения, что свидетельствует об отсутствии нарушения генетического равновесия в данных популяциях. Отсутствие нарушения генного равновесия в исследованных популяциях свидетельствует об отсутствии приоритетной селекции на увеличение белкомолочности коров.

Таблица 2- Частота встречаемости аллелей по локусу гена каппа-казеина в популяции быков-производителей РСУП «Витебское племпредприятие»

Породная и линейная принадлежность	n	%	Частота аллелей		$\chi^2$
			A	B	
<b>Голландские линии:</b>					
Аннас Адема 30587	4	4,8	0,875	0,125	0,078
Нико 31652,31831	6	7,2	1	0	0
Рутьес Эдуарда 2,31646	1	1,2	1	0	0
Хильтьес Адема 37910	8	9,6	0,875	0,125	1,01
Адема 25437	1	1,2	1	0	0
В среднем:	20	24,1	0,92	0,075	0,13
<b>Голштинские линии:</b>					
Вис Айдиал 933122	11	13,2	0,86	0,14	0,26
Рефлекшн Соверинга 198998	10	12,0	0,95	0,05	0,036
Монтвик Чифтейна 95679	22	26,5	0,84	0,16	0,71
Силинг Трайджун Рокита 252803	9	10,8	0,94	0,11	0,45
В среднем:	52	62,6	0,88	0,12	0,85
<b>Британо-фризские линии:</b>					
Пабст Говернера 882933	9	10,8	0,77	0,23	1,44
<b>Герекфордская</b>					
Не распределенные	2	2,4	1	0	0
В среднем по всем линиям:	83	100	0,88	0,11	0,07

Генетическая структура популяции коров, принадлежащих к разным линиям по локусу гена каппа-казеина представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Генетическая структура популяции коров СПК «Ольговское» различных линий по гену каппа-казеина

Породная и линейная принадлежность	n	Частота встречаемости генотипов					
		AA		AB		BB	
		n	%	n	%	n	%
<b>Голландские линии:</b>							
Аннас Адема 30587	26	12	46,1	12	46,1	2	7,69
Нико 31652,31831	43	37	86,0	5	11,6	1	2,32
Рутьес Эдуарда 2,31646	13	12	92,3	1	7,7	-	-
Хильтьес Адема 37910	13	10	76,9	2	15,4	1	7,69
В среднем:	95	71	74,7	20	21,1	4	4,2
<b>Голштинские линии:</b>							
Вис Айдиал 933122	139	100	71,9	36	25,9	3	2,2
Рефлекшн Соверинга 198998	122	78	63,9	36	29,5	8	6,6
Монтвик Чифтейна 95679	22	13	59,1	8	36,3	1	4,5
Силинг Трайджун Рокита 252803	2	2	100	-	-	-	-
В среднем:	285	193	67,7	80	28,1	12	4,2
В среднем по всем линиям:	380	264	69,5	100	26,3	16	4,2

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

Наибольшее количество гомозиготных, с нежелательным генотипом коров ( $CSN3^{AA}$ ), принадлежало к линиям Рутьес Эдуарда 2,31646 (92,3 %), Нико (86,0 %), Вис Айдиал 933122 (71,9 %), Рефлекшн Соверинга 198998 (63,9). С желательным генотипом ( $CSN3^{BB}$ ) большее количество коров принадлежало к линиям Аннас Адема 30587 и Хильтьес Адема 37910 – 7,6. Наличие гетерозиготного генотипа  $CSN3^{AB}$  преобладало в линиях Аннас Адема 30587 и Монтвик Чифтейна 95679: этот показатель составил 46,1 и 36,3 %, соответственно.

Генетическая структура быков-производителей по локусу гена каппа-казеина указаны в таблице 4.

Среди протестированных быков-производителей частота встречаемости животных с гомозиготным генотипом  $CSN3^{AA}$  составила - 78,3 %, гетерозиготным  $CSN3^{AB}$  – 20,5 % и гомозиготным  $CSN3^{BB}$  – 1,2 %. Один бык, принадлежащий к британо-фризской породе линии Пабст Говернера 882933 имел желательный гомозиготный генотип  $CSN3^{BB}$ . Наибольшее количество быков-производителей с гетерозиготным генотипом выявлено в линии Монтвик Чифтейна 95679 – 31,8 %.

Таблица 4 – Генетическая структура популяции быков-производителей различных линий по локусу гена каппа-казеина

Породная и линейная принадлежность	n	Частота встречаемости генотипов					
		AA		AB		BB	
		n	%	n	%	n	%
<b>Голландские линии:</b>							
Аннас Адема 30587	4	3	75,0	1	25,0	-	-
Нико 31652,31831	6	6	100	-	-	-	-
Рутьес Эдуарда 2,31646	1	1	100	-	-	-	-
Хильтьес Адема 37910	8	6	75,0	2	25,0	-	-
Адема 25437	1	1	100	-	-	-	-
<b>В среднем:</b>	20	17	85,0	3	15,0	-	-
<b>Голштинские линии:</b>							
Вис Айдиал 933122	11	8	72,7	3	27,3	-	-
Рефлекшн Соверинга 198998	10	8	90,0	1	10,0	-	-
Монтвик Чифтейна 95679	22	15	68,2	7	31,8	-	-
Силинг Трайджун Рокита 252803	9	8	88,8	1	11,2	-	-
<b>В среднем:</b>	52	40	76,9	12	3,1	-	-
<b>Британо-фризские линии:</b>							
Пабст Говернера 882933	9	6	66,7	2	22,2	1	11,1
<b>Геррефордская</b>	2	2	100	-	-	-	-
<b>Не распределенные</b>							
<b>В среднем по линиям:</b>	83	65	78,3	17	20,5	1	1,2

**Заключение.** В исследованиях проанализирована генетическая структура популяции быков-производителей различных линий РСУП «Витебское племпредприятие» и коров белорусской черно-пестрой породы СПК «Ольговское» Витебской области по локусу гена каппа-казеина. В результате генотипирования племенных животных методом ПЦР-ПДРФ выявлено три генотипа CSN3<sup>AA</sup>, CSN3<sup>AB</sup>, CSN3<sup>BB</sup>. Частота встречаемости желательного генотипа CSN3<sup>BB</sup> у коров белорусской черно-пестрой породы в зависимости от породной и линейной принадлежности варьировала от 2,2 % до 7,69 %, у быков-производителей от 0 до 11,1 %.

В целом полученные в ходе исследований результаты свидетельствуют о том, что селекция животных проводится на основе традиционных методов оценки молочной продуктивности, без учета генетических факторов, оказывающих значительное влияние на качественный состав молочных белков. В то же время, наличие животных с генотипом CSN3<sup>BB</sup> дает возможность совершенствования отечественного скота в направлении улучшения качества молока и повышения белкомолочности при использовании быков-производителей носителей аллеля CSN3<sup>B</sup>.

**Литература.** 1. Ахметов, Т.М. Изучение хозяйственно-полезных признаков продуктивности коров с разными генотипами по локусу гена каппа-казеина / Т.М. Ахметов // Материалы III Международной научно-практической конференции Современные и технологические аспекты развития животноводства России.- Дубровицы.- 2005. - Т. 2.- С. 174-177. 2. Влияние гена локуса каппа-казеина на продуктивность коров. / Б. Иолчев [и др.] // Москва.- Молочное и мясное скотоводство.-2003.-№ 3.- С. 34-35. 3. 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. 4. Димань Т.М. Поллиморфна система к-казеину, II зв'язок із продуктивними якістьми великої рогатої худоби / Вісник аграрної науки, 1998.- С.33-35. 5. Использование генетических маркеров в селекционно-племенной работе / Н. Ковалюк [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. – 2003. – С. 20-21. 6. Иолчиев, Б. Влияние гена локуса каппа-казеина на продуктивность коров. / Б. Иолчиев [и др.] // Молочное и мясное скотоводство.- 2003.-№ 3.- С. 34-35. 7. Иолчиев, Б.С. Частота аллелей и распределение фенотипов белковых фракций молока дочерей разных быков. / Б.С. Иолчиев // ВНИИЖ.-Новое в селекции сельскохозяйственных животных.- Дубровицы.- 1993.- С. 144-149. 8. Снопова, А.А. Пути повышения белковости молока /А.А. Снопова.- Москва: Россельхозиздат, 1986.- 84 с. 9. Marzali, A.S. Effect of milk composition and genetic polymorphism on cheese composition. / A. S. Marzali, K.F. Ng-Kwai-Haug // J. Dairy Res.-1986.-V.692.-P. 2533-2542. 10. Nebora, M. Kappa-casein gene polymorphism in cattle breeds in the Czech republic and Poland. / M. Nebora, J. Dvorak, T. Szulc // Animal Production RIJEN.-1996.-Vol 41.-№ 10.- 429-431. 11. Potreba i mozliwosci doskonalenia bydla w kierunku wiekszej produkcji bialka mleka. – Postepy Nauk roln., 1978, 25,4: 83-98.