

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ БЕЛКОВ МОЛОКА С ПОКАЗАТЕЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ ПЛЕМЕННЫХ КОРОВ БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ

Грибанова Ж.А.

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству»,
г.Жодино, Республика Беларусь

Проведено генотипирование популяции коров белорусской черно-пестрой породы по локусам генов каппа-казеина (CSN3), бета-лактоглобулина (BLG) и альфа-лактальбумина (LALBA). Проанализирована молочная продуктивность коров в зависимости от генотипов данных генов. Установлено превосходство животных с генотипами CSN3^{BB} и BLG^{BB} по показателю содержания белка в молоке.

Genotyping of cows population of Belarusian black-motley breed on loci of CSN3, BLG and LALBA genes is carried out. Milk productivity of cows depending on genotypes of the given genes is analyzed. Superiority of animals with genotypes CSN3^{BB} and BLG^{BB} on index of milk protein content is determined.

Введение. Повышение уровня молочной продуктивности, качества молока и экономической эффективности его производства является основной целью при разведении молочных пород крупного рогатого скота. В последнее время большое внимание уделяется признакам белкомолочности и технологическим свойствам молока. С развитием молекулярной генетики стала возможной идентификация генов, связанных с продуктивными признаками. В молочном скотоводстве это, в первую очередь гены, кодирующие белки: каппа-казеин (CSN3), бета-лактоглобулин (BLG) и альфа-лактальбумин (LALBA).

Ген CSN3 – один из наиболее известных генов, связанных с уровнем белка в молоке. В ряде исследований [1,2] показано, что аллель CSN3^B имеет ряд отличительных особенностей по сравнению с аллелем CSN3^A: различие в размере мицелл, более высокое содержание протеина, большую стабильность при нагревании и замораживании, лучшие свойства для сыроделия (более короткое время коагуляции, коагулят более плотной консистенции). Животные с гомозиготным генотипом CSN3^{BB} имеют превосходство по содержанию белка на 0,2-0,4% [3]. Молоко, полученное от этих коров, по технологическим параметрам имеет преимущество для производства белкомолочных продуктов: повышение содержания казеина в молоке увеличивает выход сыра не только за счет массы казеина, но и за счет увеличения количества связываемой влаги.

Гены сывороточных белков молока BLG и LALBA в дополнение к CSN3 находят применение в маркерзависимой селекции. Аллель BLG^B связывают с высоким содержанием в молоке казеиновых белков и лучшими параметрами казеинового коагулята, аллель BLG^A ассоциируют с большим общим удоем и высоким содержанием сывороточных белков [4,5].

Ген LALBA играет функциональную роль в изменении объема синтезируемого молока: животные с генотипом LALBA^{AA} превосходят по уровню удоя животных с генотипом LALBA^{BB}.

Цель наших исследований заключалась в определении влияния полиморфных вариантов генов каппа-казеина, бета-лактоглобулина и альфа-лактальбумина на показатели молочной продуктивности (удой, содержание жира и белка) племенных коров белорусской черно-пестрой породы.

Материал и методы. Исследования проводили в РУСП экспериментальной базе «Жодино» Минской области. Объектом исследований были племенные коровы белорусской черно-пестрой породы. Все животные находились в одном отделении хозяйства в одинаковых условиях содержания и кормления. ДНК-тестирование животных осуществлялось на базе РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству».

Для идентификации генотипов животных по локусам генов белков молока (CSN3, BLG и LALBA) у исследуемых коров взяли биопробы ткани ушной раковины. Ядерную ДНК выделяли перхлоратным методом с собственными модификациями. При проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали праймеры, специфические для каждого гена.

Для амплификации фрагмента гена CSN3:

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

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

Для амплификации фрагмента гена LALBA:

LAC 1 5' - AAG AGT TGG ATG GAA TCA CC - 3'

LAC 2 5' - TTC AAA TTG CTG GCA TCA AGC - 3'

Для амплификации фрагмента гена BLG:

LG 1 5' - TGT GCT GGA CAC CGA CTA CAA AAA G - 3'

LG 2 5' - GCT CCC GGT ATA TGA CCA CCC TCT - 3'

ПЦР-программа выбиралась согласно существующим методикам.

Рестрикция амплифицированных участков генов CSN3, LALBA и BLG осуществлялась с использованием рестриктаз HindIII, SduI и HaeIII соответственно при температуре 37°C в течение 5-6 часов.

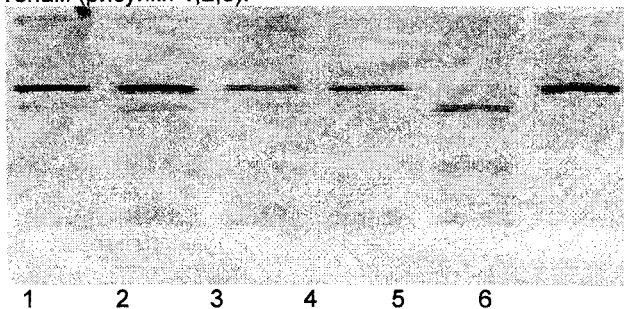
Концентрацию, нативность, подвижность ДНК, концентрацию и специфичность амплификата, а также результаты расщепления рестриктазой продуктов ПЦР оценивали электрофоретическим методом в агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, с помощью трансиллюминатора в УФ-свете. Для анализа распределения рестрикционных фрагментов ДНК использовали компьютерную видеосистему и программу VItran. В качестве маркера использовали ДНК плазмиды pBR322, расщепленную рестриктазой AluI, либо рестриктазой BsuRI.

По результатам ДНК-тестирования были сформированы опытные группы коров в соответствии с генотипами: CSN3^{AA}, CSN3^{AB}, CSN3^{BB}, BLG^{AA}, BLG^{AB}, BLG^{BB}, LALBA^{AA}, LALBA^{AB}, LALBA^{BB}. Для каждой из

групп по результатам контрольных доек и данным зоотехнического учета были изучены следующие показатели молочной продуктивности: удой (кг) (с учетом количества лактаций), содержание жира (%) и белка (%) в молоке.

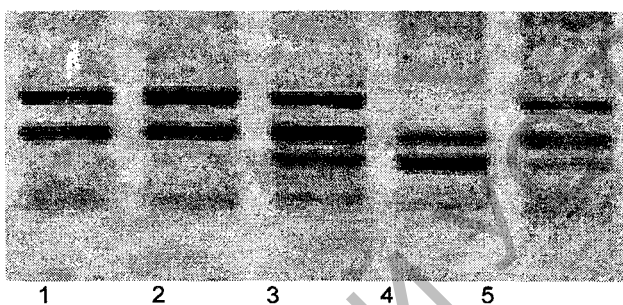
Проведена статистическая обработка полученных данных с использованием метода хи-квадрат для проверки генного равновесия по вышеуказанным локусам.

Результаты исследований. По результатам ПЦР-ПДРФ анализа идентифицированы генотипы животных по исследуемым генам (рисунки 1,2,3).



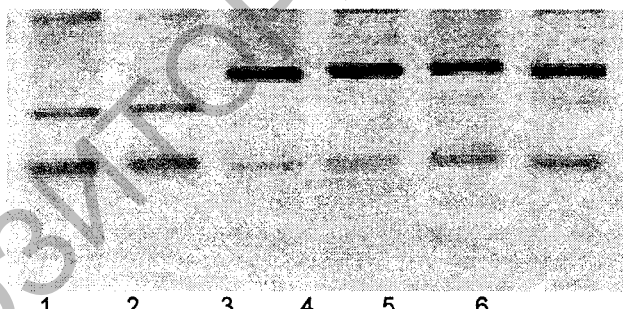
Дорожки 4, 6 – генотип $CSN3^{AA}$ – фрагмент 530 п.о.
Дорожка 1,2,3 – генотип $CSN3^{AB}$ – фрагменты 530, 400 и 130 п.о.
Дорожка 5 – генотип $CSN3^{BB}$ – фрагменты 400 и 130 п.о.

Рисунок 1 – Генотипы коров по локусу гена $CSN3$



Дорожки 1,2 – генотип BLG^{AA} – фрагменты 148, 99 п.о.
Дорожка 3,5 – генотип BLG^{AB} – фрагменты 148, 99 и 74 п.о.
Дорожка 4 – генотип BLG^{BB} – фрагменты 99 и 74 п.о.

Рисунок 2 – Генотипы коров по гену BLG



Дорожка 3,4 – генотип $LALBA^{AA}$ – фрагменты 328, 102 п.о.
Дорожка 5,6 – генотип $LALBA^{AB}$ – фрагменты 328, 211, 117 и 102 п.о.
Дорожки 1,2 – генотип $LALBA^{BB}$ – фрагменты 211, 117 и 102 п.о.

Рисунок 3 – Генотипы коров по гену $LALBA$

В ходе работы было установлено наличие полиморфизма по всем трем генам молочных белков среди племенных коров белорусской черно-пестрой породы. Распределение аллельных и генотипических частот по изученным генам представлено в таблице 1.

Таблица 1 - Частоты встречаемости аллелей и генотипов генов $CSN3$, BLG и $LALBA$ у племенных коров белорусской черно-пестрой породы

Тестируемый ген	Кол-во гол.	Распределение генотипов	Частота встречаемости					χ^2
			генотипов, %			аллелей		
			AA	AB	BB	A	B	
CSN3	185	Ф	63	33	4	0,795	0,205	0,008
		Т	63,1	32,7	4,2			
BLG	185	Ф	25	47	28	0,489	0,511	0,64
		Т	23,9	50,0	26,1			
LALBA	170	Ф	32	54	14	0,591	0,409	1,96
		Т	34,9	48,3	16,7			

При изучении полиморфизма гена каппа-казеина выявлено значительное превышение частоты встречаемости аллеля CSN3^A над аллелем CSN3^B (0,795 и 0,205 соответственно). Наибольшую частоту встречаемости среди исследованных животных имел гомозиготный генотип CSN3^{AA} – 63%. Частота встречаемости гетерозиготного генотипа CSN3^{AB} составила 33%, и лишь 4% протестированных коров имело гомозиготный генотип CSN3^{BB}.

Изучение полиморфизма гена бета-лактоглобулина показало, что частота встречаемости аллельных вариантов распределилась следующим образом: BLG^A (0,489) и BLG^B (0,511). Доля животных с генотипом BLG^{AB} составила около половины (47%) от всех протестированных особей. Частота гомозиготных генотипов BLG^{AA} и BLG^{BB} была почти одинаковой – 25% и 28% соответственно.

Выявлено три варианта генотипов альфа-лактальбумина, из которых наибольшей частотой встречаемости характеризовался гетерозиготный генотип LALBA^{AB}, идентифицированный у более половины всех протестированных животных (54%). Доля гомозиготных генотипов составила: LALBA^{AA} (32%) и LALBA^{BB} (14%). Частоты встречаемости аллелей гена альфа-лактальбумина имели следующие значения: LALBA^A (0,591) и LALBA^B (0,409).

По полученным данным рассчитано генетическое равновесие для локусов исследуемых генов: значение χ^2 по всем изученным локусам было в пределах 0,008 - 1,96 и не превышало табличного значения. Использование метода Харди-Вайнберга позволило установить, что в данном стаде нет сдвига генетического равновесия ни по одному из трех генов. Это свидетельствует об отсутствии отбора, затрагивающего генотипы животных по локусам генов молочных белков.

Следующим этапом исследований являлось изучение показателей молочной продуктивности коров различных генотипов по локусам генов: CSN3, BLG, LALBA. Результаты представлены в таблице 2.

Анализ данных молочной продуктивности групп с различными генотипами по локусу гена CSN3 показал, что в экспериментальной базе «Жодино» наивысшие показатели по удою наблюдались в группе животных с генотипом CSN3^{AA}. Коровы с этим генотипом превосходили по удою животных с генотипом CSN3^{AB} на 225 кг молока и генотипом CSN3^{BB} - на 616 кг. Полученные результаты согласуются с данными научной литературы [6].

Таблица 2 - Показатели продуктивности племенных коров белорусской черно-пестрой породы с различными генотипами по локусам генов CSN3, BLG и LALBA

Генотип животных	Кол-во животных, голов	Показатели		
		Удой, кг	Жир, %	Белок, %
CSN3 ^{AA}	117	9012 ± 154	3,79 ± 0,02	3,20 ± 0,01
CSN3 ^{AB}	60	8787 ± 143	3,81 ± 0,01	3,23 ± 0,01
CSN3 ^{BB}	8	8396 ± 338	3,94 ± 0,07*	3,25 ± 0,02*
BLG ^{AA}	47	8958 ± 240	3,79 ± 0,02	3,19 ± 0,02
BLG ^{AB}	87	9088 ± 155	3,80 ± 0,02	3,21 ± 0,01
BLG ^{BB}	51	8581 ± 190	3,84 ± 0,02	3,24 ± 0,01*
LALBA ^{AA}	55	8910 ± 201	3,82 ± 0,03	3,21 ± 0,01
LALBA ^{AB}	91	8933 ± 157	3,79 ± 0,02	3,21 ± 0,01
LALBA ^{BB}	24	8618 ± 232	3,79 ± 0,03	3,22 ± 0,02

Примечание: Разница с показателями генотипа CSN3^{AA} и BLG^{AA} достоверна при: * - P<0,05

Средние показатели содержания жира по исследуемым группам были в пределах 3,79 - 3,94%. Наибольший процент жира имели животные с генотипом CSN3^{BB}, наименьший - с генотипом CSN3^{AA}.

Преимущество по содержанию белка в молоке (на 0,05%) выявлено в третьей группе (CSN3^{BB}) по сравнению с животными генотипа CSN3^{AA}. В молоке коров с генотипом CSN3^{AB} среднее содержание белка составило 3,23%. Данный показатель наиболее точно отражает зависимость содержания белка в молоке от имеющихся в геноме животного полиморфных вариантов гена каппа-казеина.

Изучение признаков молочной продуктивности в группах коров, полиморфных по гену бета-лактоглобулина, показало отсутствие существенных различий по среднему удою между группами, однако, животные, имеющие гомозиготные генотипы BLG^{AA} и BLG^{BB}, несколько уступали группе с генотипом BLG^{AB} на 130 кг и 507 кг, соответственно. Содержание жира и белка в молоке коров с генотипами BLG^{BB} было выше, чем в группах BLG^{AB} и BLG^{AA} на 0,04% и 0,5% и на 0,03% и 0,05% соответственно.

Несколько иные показатели были получены по группам коров с полиморфными вариантами по гену LALBA. Наибольший удой был отмечен в группе коров с генотипом LALBA^{AB} (8933 кг), что на 23 кг выше, чем в группе с генотипом LALBA^{AA} и на 315 кг больше, чем у животных с генотипом LALBA^{BB}.

Наибольший показатель содержания жира был выявлен в группе коров гомозиготного генотипа LALBA^{AA} (3,82%), наименьший - в восьмой (LALBA^{AB}) и девятой (LALBA^{BB}) группах - 3,79%. Данные по белку варьировали от 3,21% до 3,22%, не имея достоверных отличий в зависимости от генотипа.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что селекция животных ведется на основе традиционных методов оценки молочной продуктивности, без учета генетических факторов, оказывающих существенное влияние на качественный состав молочных белков.

Изучение полиморфизма генов CSN3, BLG и LALBA у племенных коров белорусской черно-пестрой породы и оценка их влияния на показатели молочной продуктивности даст возможность использовать полученные результаты в селекционных программах, направленных на повышение белкомолочности.

Литература. 1.Калашникова, Л. А. Влияние генотипа к-казеина на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы / Л. А. Калашникова, Е. А. Денисенко, А. Ш. Тинаев // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. к 55-летию Института. Т. 39. – Гродно, 2004. – С. 50-56. 2.Рахманалиев, Э. Р. Типирование крупного рогатого скота

черно-пестрой породы по гену каппа-казеина / Э. Р. Рахманалиев, Г. Е. Сулимова // Молекулярно-генетические маркеры животных : тез. докл. третьей междунар. конф. – Киев, 1999. – С.20-21. 3.Юхманова, Н. А. Влияние генетических вариантов каппа-казеина на технологические свойства молока и состав сыра скота красно-пестрой породы / Н. А. Юхманова, Л. А. Калашникова // Ветеринарная генетика, селекция и экология : материалы 2-й Междунар. науч. конф. / Новосибирский гос. аграрный ун-т. – Новосибирск, 2003. – С. 258-259. 4.Иванченко, Е. В., Облуп Р. В., Глазко В. И.Полиморфизм хозяйственно-ценных генов (бета-лактоглобулин, каппа-казеин) у аутохонных пород Украины.//Материалы н.з. конф. посвященной 100-летию со дня рождения А. Р. Жебрака и 70-летию образования кафедры генетики Московской с.-х. Академии им. К. А. Тимирязева. – М.-2002. С.126-128. 5.Технологические свойства молока коров разных генотипов по генам каппа-казеина, бета-лактальбумина и альфа-лактальбумина / О. В.Костюнина О.В [и др.] // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы 4-й междунар. науч. конф., 24-25 нояб. – Дубровицы, 2004. – С. 2. – Соавт. : Хрипякова Е. Н., Стрекотов Н. И., Зиновьева Н. А. 6. Меркурьева, Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е. К. Меркурьева. – М. : Колос, 1977. – 240 с.

УДК.636.52/58.087.7

ГОЛОЗЕРНЫЙ ОВЕС В РАЦИОНАХ КУР

Дадашко В.В., Ромашко А.К., Зинкевич Л.В.
РУП «Опытная научная станция по птицеводству»
г. Заславль, Республика Беларусь

Применение районированных голозерных сортов овса в рационах цыплят и кур-несушек яичных пород оказывает положительное влияние на продуктивность птицы, конверсию корма, снижает затраты кормов на производство яиц, что позволяет получить дополнительную прибыль. Определена максимальная норма – 40 % голозерного овса в комбикормах кур.

Application zoned naked-grain oats grades in a diet of chickens and hens-layers of egg breeds makes positive impact on efficiency of a bird, forage conversion, reduces expenses of forages for manufacture of eggs that allows to receive additional profit. The maximum norm - 40 % naked-grain oats in mixed foddors of hens is defined.

Введение. Максимальное проявление генетического потенциала продуктивности птицы, в первую очередь, обусловлено поступлением в организм энергии, основным источником которой являются углеводы злаковых зерновых. Республика Беларусь находится в благоприятных природно-климатических условиях для эффективного выращивания злаковых и бобовых зерновых культур. К сожалению, значительная часть углеводов зерновых представлена трудногидролизуемыми полисахаридами, что снижает использование питательных веществ рациона, отрицательно влияет на продуктивность, не позволяет максимально их использовать в кормлении птицы. В современных условиях существующая проблема усугубляется дефицитом высокопитательных компонентов комбикорма для птицы: рыбной муки, кукурузы, соевого шрота из-за высокого их потребления в животноводстве, сокращения поставок и дороговизны на мировом рынке [1,2,3].

Это требует пересмотра стратегии кормления птицы, уменьшения зависимости отрасли от поставок импортных кормов путем изменения существующих программ кормления, перехода на злаковые и бобовые зерновые культуры, производимые в условиях республики, а также повышения их питательной ценности в процессе кормления птицы [4,5].

Вместе с тем, в республике повсеместно в больших масштабах возделывается зерновая культура овес, которая, при определенном подходе, может заменить значительную часть пшеницы и кукурузы [6,7].

Овес содержит много холина, который предупреждает ожирение печени, что, имеет большое значение для кур мясных кроссов, более склонных к ожирению. В этом зерне в значительном количестве содержится важная для роста молодняка пантотеновая кислота. Овес стимулирует рост пера и способствует ослаблению склонности птицы к каннибализму. Жир овса богат ненасыщенными жирными кислотами, в том числе линолевой [5]. Однако из-за наличия в зерне овса ряда антипитательных факторов (высокий уровень клетчатки, бета-глюканов, пентозанов, ингибиторов трипсина) он не нашел должного применения в кормлении птицы. Норма ввода его в комбикорма для взрослого поголовья, согласно рекомендациям ВНИТИП (2003г.), ограничивается 20 %, а в рационах молодняка первого возраста его вообще не используют. Отдельные сорта овса содержат от 25 до 30 % пленок, кормовая ценность которых очень низкая [4].

С целью снижения уровня клетчатки зерно шелушат. Ежегодно в республике подвергают шелушению (освобождению от пленок) более 100 тыс. тонн пленчатого овса, предназначенного для продовольственных целей и производства комбикормов. Экономически же целесообразнее использовать зерно голозерных сортов ячменя или овса. В настоящее время в Белоруссии выведены и районированы два голозерных сорта овса «Белорусский голозерный» и «Вандроуник», которые дают неплохие урожаи (28-32 ц/га). Потенциальная продуктивность этих сортов, установленная в республиканской ГСИ и на международных испытаниях в Англии, достигает 50-55 ц/га. К тому же отпадает необходимость в сушке, транспортировке, хранении балласта, которым, по сути, является пленка овса.

Материал и методы. На базе РУП «Опытная научная станция по птицеводству» проведены научно-хозяйственные эксперименты по использованию голозерного овса в кормлении цыплят яичных пород с суточного по 17-недельный возраст и кур-несушек с 32 по 58-неделю жизни согласно схеме опыта (таблица 1).