

или на 8,3-12,5 %, больше, чем у маток КБ×Л×БМ, КБ×Л и КБ при небольших отклонениях в количестве (8,6-8,8 голов) и массе гнезда к объему (67,6-70,3 кг).

У свиноматок генотипа КБ×БЧП, у которых супоросность составляла 115,2 дня, многоплодие составляло лишь 7,6 головы. В разрезе опоросов длительность эмбриогенеза колебалась незначительно. По третьему опоросу составляла 114,8 дня, что на 0,2-0,4 дня больше, чем по 1 и 2-ому опоросам. Многоплодие по первому опоросу меньше, чем в последующих. С 3-го по 4-й опорос оно колебалось от 8,2 до 8,7 поросят, а наибольшим было по 9 и 10 опоросам и составляло 9,3 и 10,3 головы соответственно.

**Список использованной литературы.** 1. Анистратов, М.И. Период супоросности и продуктивность маток / М.И. Анистратов, В.П. Ятусевич // Свиноводство. – Минск, 1984. – № 6. – С. 16-17 2. Вангелов, И. Изучение периода беременности свиней крупной белой породы. Продолжительность периода колебаний и влияние некоторых факторов / И. Вангелов, М. Мачев // Животноводство. – 1970. – №7. – С. 57-60. 3. Воронов, П. Влияние длительности утробного развития на ритмичность производства / П. Воронов, С. Рязанцев, З. Козырь, А. Козлов // Свиноводство. – 1977. – № 10. – С. 25-26. 4. Гильман, З.Д. Свиноводство и технология производства свинины / З.Д. Гильман. – Минск: «Ураджай», 1995. 5. Климов, Н.Н. Продолжительность супоросности свиней различных генотипов: Материалы международной научной конференции посвященной 25-летию Смоленского сельскохозяйственного института / Н.Н. Климов / Зоотехния. – Смоленск, 1999. – С. 75-76. 6. Козумплик, Я. Воспроизводство свиней на комплексах / Я. Козумплик, Э. Кудлач; перев. с чешск. К.С. Богданова; под ред. проф. З.Д. Гильмана. – Минск: «Ураджай», 1983. – С. 67-71. 7. Левентуль, Л.Х. Продолжительность супоросности у маток украинской степной ярбой породы / Л.Х. Левентуль // Доклады ВАСХНИЛ. – 1969. – № 7. – С. 31-33. 8. Левентуль, Л.Х. Связь продолжительности супоросности у свиноматок с инбредностью и плодовитостью / Л.Х. Левентуль // С.-х. биология. – 1971. – № 2. – С. 184-187. 9. Лымарь, П.И., Закарко, В.С., Рязанцев, В.П. Супоросность свиноматок и ее связь с многоплодием в условиях комплексов / П.И. Лымарь и др. // Повышение эффективности производства свинины: Сб. науч. тр. / Харьковский с.-х. ин-т. – Харьков, 1983. – Т. 295. – С. 85-87. 10. Пинчук, В.Ф. Продуктивность свиноматок в зависимости от продолжительности их внутриутробного развития / Пинчук, В.Ф. // Международный аграрный журнал. – 2000. – №9. С. 28-32 11. Пинчук, В.Ф. Влияние продолжительности внутриутробного развития на продуктивные качества свиней / В.Ф. Пинчук, Т.В. Голуб, В.А. Стрельцов // Зоотехническая наука Беларуси: Сб. науч. тр. / БелНИИЖ. – Мн. Бел. издат. "Хата", 2000. – Т. 35. – С. 163-171. 12. Пономарев, Н. Влияние различных факторов на продолжительность супоросности свиней / Н. Пономарев // Свиноводство. – 1998. – № 4. – С. 30-31. 13. Станкевич, В. Система содержания и продолжительность супоросности у свиноматок / В. Станкевич // Науч. техн. бюл. ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1981. – Вып. 52. – С. 22-25. 14. Степуленкова, А.А. Продолжительность супоросности как технологический элемент цикла репродукции: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.04 / ВИЖ / А.А. Степуленкова. – Дубровицы, 1979. – 24 с.

УДК 336.2.082.12

## МОЛОЧНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ С РАЗЛИЧНЫМИ ГЕНОТИПАМИ ПО ГЕНУ КАППА-КАЗЕИНА

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

\*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

\*\*РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь, 222160

*Опыт показывает, что генетические варианты гена каппа-казеина важны для селекционной практики. Ген каппа-казеина можно использовать как селекционно-генетические маркеры. Результаты работы позволят повысить удой коровы на 1406 кг и содержание белка в молоке на 0,1 %.*

*Experience shows, that genetic variants of a gene of kappa-casein are important for selection practice. A gene of kappa-casein it is possible to use genetic markers. Results of work will allow to increase a yield of milk of the cow on 1406 kg and the contents of fiber in milk on 0,1 %.*

**Введение.** Основной задачей молочного скотоводства является создание высокопродуктивных стад животных с высокой молочной продуктивностью, большим содержанием белка в молоке, обладающим хорошими технологическими свойствами.

Применение традиционных методов селекции, направленных на улучшение данных признаков, на современном этапе осуществляется недостаточно эффективно. В то же время, как показывает анализ процессов, происходящих в мировом скотоводстве, этому признаку придается огромное значение как с хозяйственной, так и с экономической точки зрения. В ведущих генетических центрах мира проводятся исследования по идентификации и реальному использованию гена каппа-казеина (CSN3) в селекционном процессе в качестве маркера для повышения признаков белковомолочности и технологических свойств молока [2]. Возрастающее значение производства белковой продукции диктует необходимость использования современных генетических методов, способствующих интенсификации селекционных процессов и улучшению количественных и качественных характеристик молока [5].

Современные молекулярно-генетические методы по поиску генетических маркеров, связанных с белковомолочностью, позволяют выявить аллельные варианты генов по последовательности ДНК, напрямую связанные с молочной продуктивностью [2]. Полиморфные нуклеотидные последовательности уже нашли свое применение при идентификации индивидуумов, подтверждении родословных, установлении генетических дефектов, устойчивости к заболеваниям и маркировании хозяйственно-полезных признаков [4].

Казеины – белки молока, секретируемые клетками молочной железы. Основная фракция белков представляет собой казеин, который в молоке находится в форме коллоидных частиц или мицелл. На долю казеина приходится чуть более 80 % всего молочного белка [5]. В настоящее время идентифицировано 9 аллелей каппа-казеина (CSN3) - CSN3<sup>A</sup>, CSN3<sup>B</sup>, CSN3<sup>C</sup>, CSN3<sup>E</sup>, CSN3<sup>F</sup>, CSN3<sup>G</sup>, CSN3<sup>H</sup>, CSN3<sup>I</sup>, CSN3<sup>Al</sup>. Известно, что нали-

чие В-аллельного варианта каппа-казеина (по сравнению с аллелем А) связано с более высоким содержанием белка в молоке, показателями молочной продуктивности (удойностью) и технологическими свойствами молока при производстве белково-молочных продуктов. Выход сыра из молока коров с генотипом CSN3<sup>BB</sup> на 10 % выше, чем из молока коров с CSN3<sup>AA</sup> генотипом [1]. Во многих развитых странах преимущественная селекция на CSN3<sup>B</sup> включена в селекционные программы по разведению крупного рогатого скота. В некоторых странах, например, во Франции, быки-производители с генотипом CSN3<sup>BB</sup> премируются при оценке дополнительными баллами [8, 6, 7].

Использование методов генотипирования полиморфных вариантов молочных белков на уровне ДНК открыло в молочном скотоводстве Беларуси перспективу использования информации о генотипе в практической селекционной работе. Применение метода полимеразной цепной реакции - полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ) позволило определить аллельные варианты у производителей и коров, а также молодняка, независимо от пола и возраста животных, что значительно ускоряет решение селекционных задач. Преимуществом данного метода является возможность экспертизы не только молока, крови, но и другого материала, например, спермы или ткани [3].

Целью нашей работы явилось установление частот А- и В- аллелей гена каппа-казеина у быков-производителей РУП «Витебского племпредприятия» и коров белорусской черно-пестрой породы в возрасте от 3 до 10 лет, разводимых ЗАО «Ольговское» и изучение ассоциации полиморфных вариантов данного гена с показателями молочной продуктивности.

Материалы и методы исследований.

Опыты проводили в течение 2007-2008 гг. в РУП «Витебском племпредприятии», ЗАО «Ольговское» Витебского района Витебской области, РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству».

Объектом исследований служили образцы ДНК коров черно-пестрой породы – 380 проб, полученных из ткани ушной раковины размером 0,5<sup>2</sup> x 0,5<sup>2</sup>, а также 83 спермодозы быков – производителей.

ДНК-тестирование животных проводилось методом ПЦР-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'

Для проведения рестрикции применялась эндонуклеаза HindIII.

Продукты расщепления амплификата рестриктазой HindIII представлены на рисунке 1.

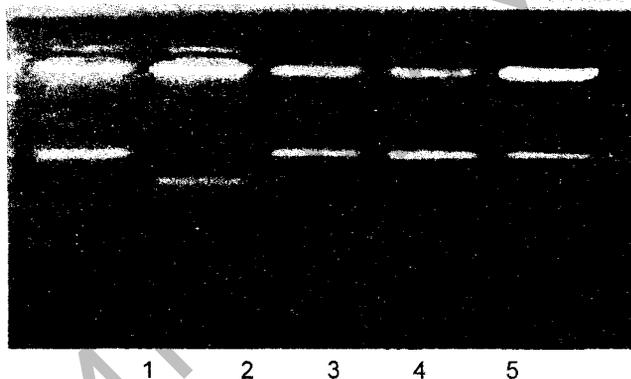


Рисунок 1 - рестрикция амплификатов (№ 1-5), полученных с помощью лизиса, проведенного в течение 8-10 часов с использованием рестриктазы HindIII. Электрофорез проводили в 2% агарозном геле, 30 мин, 130 В.

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.

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.

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 VITrap.

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<sup>2</sup> – частота гомозиготных генотипов АА;

q<sup>2</sup> – частота гомозиготных генотипов ВВ;

2pq – частота гетерозиготных генотипов АВ.

Молочную продуктивность коров учитывали по данным зоотехнического учета хозяйства за 305 дней лактации. Процент белка определяли расчетным путем при помощи коэффициента корреляции процент жира – процент белка и с помощью ультразвукового прибора Лактан 1-4.

Результаты исследований и их обсуждение.

С помощью эндонуклеазы HindIII в препаратах ДНК выявлено два аллеля каппа-казеина: А и В (таблица 1). Диагностировано наличие трех генотипов - CSN3<sup>AA</sup>, CSN3<sup>AB</sup>, CSN3<sup>BB</sup>.

Таблица 1. Частота встречаемости аллелей гена каппа-казеина коров черно-пестрой породы (группа 1) и быков-производителей (группа 2).

Возрастная группа	n	Частота встречаемости аллелей		$\chi^2$
		A	B	
Коровы	380	0,83	0,17	2,8
Быки-производители	83	0,88	0,11	0,07

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

Выявлено, что носителями аллеля CSN3<sup>A</sup> являются 88,6 % быков, и лишь 11,4 % животных имело в своем генотипе желательный аллель CSN3<sup>B</sup>.

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.

Генетическая структура исследованных популяций по локусу гена каппа - казеина представлена в таблице 2.

Таблица 2. Генетическая структура популяций быков-производителей и коров по локусу гена каппа-казеина, %.

Возрастная группа	n	Частота встречаемости генотипов					
		n	AA	n	AB	n	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<sup>AA</sup> (ответственный за синтез белка А каппа-казеина); 100 животных, либо 26,3 %, имели генотип CSN3<sup>AB</sup> (белок, который сочетает в себе свойства А и В белков каппа-казеина); 16 животных, либо 4,2 %, – генотип CSN3<sup>BB</sup> (желательный генотип, ответственный за белок В каппа-казеина).

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

Использование статистического метода Харди-Вайнберга позволило установить, что в данных популяциях генетическое равновесие смещено в сторону нежелательного гомозиготного генотипа AA.

В своих исследованиях мы проанализировали взаимосвязь между полиморфными вариантами гена каппа-казеина и удоем, содержанием жира и белка в молоке коров (таблица 3).

Из анализа таблицы 3 видно, что выход белка у коров разных генотипов различный. В целом содержание белка в молоке коров, имеющих генотип CSN3<sup>AA</sup>, составил 3,18 %; CSN3<sup>AB</sup> – 3,19 %; CSN3<sup>BB</sup> – 3,28 %. У животных с генотипом CSN3<sup>BB</sup> содержание белка в молоке было выше, чем у животных с генотипом CSN3<sup>AA</sup>, на 0,1 % (P<0,05), с генотипом CSN3<sup>AB</sup> на 0,09 % (P<0,01).

Гомозиготные особи с генотипом CSN3<sup>AA</sup> уступали животным с генотипами CSN3<sup>AB</sup>, CSN3<sup>BB</sup> по удою и содержанию молочного белка, в том числе по удою на 1406 кг (P<0,001) и 890 кг (P<0,05), выходу молочного белка на 50,8 и 17,3 кг соответственно (P<0,001, P<0,01).

Таблица 3. Ассоциация полиморфных вариантов гена каппа-казеина с удоем, содержанием жира и белка в молоке коров.

Показатели	Генотипы			± BB к AA
	AA	AB	BB	
Количество коров	264	100	16	
Удой за 305 дн., кг	4578 ± 63,9	5094 <sup>***</sup> ± 93,3	5984 ± 308,7	+ 1406
Св, %	22,6 ± 0,98	18,2 ± 1,29	19,9 ± 3,64	- 2,7
Жир, %	3,60 ± 0,01	3,61 <sup>**</sup> ± 0,02	3,72 ± 0,02	+ 0,12
Св, %	6,0 ± 0,26	5,9 ± 0,42	3,0 ± 0,51	- 3
Молочный жир, кг	165,2 <sup>**</sup> ± 2,32	184,4 ± 3,84	223,0 ± 11,78	+ 57,8
Св, %	22,8 ± 1,00	20,7 ± 1,47	20,4 ± 3,73	- 2,4
Белок, %	3,18 ± 0,01	3,19 <sup>**</sup> ± 0,01	3,28 ± 0,02	+ 0,1
Св, %	6,2 ± 0,27	5,9 ± 0,4	2,8 ± 0,52	- 3,4
Молочный белок, кг	146,0 ± 2,07	163,3 <sup>**</sup> ± 3,38	196,8 ± 10,4	+ 50,8
Св, %	23,0 ± 1,00	20,6 ± 1,46	23,4 ± 0,85	0,4

По содержанию жира в молоке в среднем коровы с генотипом CSN3<sup>AA</sup> уступали животным генотипа CSN3<sup>AB</sup> и CSN3<sup>BB</sup> на 0,11 и 0,12 % (P<0,01) соответственно.

Установлено, что по содержанию молочного жира в молоке за лактацию коровы с гомозиготным генотипом CSN3<sup>BB</sup> превосходили особей с генотипами CSN3<sup>AB</sup> на 38,6 кг (P<0,05) и CSN3<sup>AA</sup> на 57,8 кг (P<0,01).

Как показал анализ полученных данных показатели продуктивности у животных с генотипом CSN3<sup>BB</sup> выше, в то же время изменчивость ниже, что указывает на генетическую обусловленность данных признаков, а следовательно и влияние генотипа животных в детерминации данных признаков.

**Заключение.** В исследовании проанализирована генетическая структура популяций быков-производителей Витебского госплемпредприятия и коров черно-пестрой породы ЗАО «Ольговское» Витебского района Витебской области по локусу гена каппа-казеина. В результате генотипирования гена каппа-казеина методом ДНК-диагностики выявлено три генотипа CSN3<sup>AA</sup>, CSN3<sup>AB</sup>, CSN3<sup>BB</sup>. Частота встречаемости гомозиготного генотипа CSN3<sup>AA</sup> у коров составила 69,5 %, у быков-производителей Витебского госплемпредприятия - 78,3 %; гетерозиготного генотипа CSN3<sup>AB</sup> - 26,3 % и 20,5 %; гомозиготного генотипа CSN3<sup>BB</sup> - 4,2 % и 1,2 % соответственно. Частота аллеля CSN3<sup>A</sup> в популяции коров и быков-производителей составила 0,83 и 0,88 CSN3<sup>B</sup> - 0,17 и 0,11, соответственно.

Установлено, наличие достоверного влияния полиморфных вариантов гена каппа-казеина на уровень удоя и содержание жира и белка в молоке коров.

Наиболее высокая молочная продуктивность за 305 дней лактации наблюдалась у коров с гомозиготным генотипом CSN3<sup>BB</sup> (5984 кг), что на 890 кг больше, чем у животных с генотипом CSN3<sup>AB</sup> (5094 кг), и на 1406 кг больше (P<0,05), чем у особей с генотипом CSN3<sup>AA</sup> (4578 кг).

Коровы, которые своим геномом имели аллель В каппа-казеина, характеризовались более высоким содержанием жира в молоке (CSN3<sup>AB</sup> - 3,61 %, CSN3<sup>BB</sup> - 3,72 %), чем животные с генотипом CSN3<sup>AA</sup> - 3,60 %.

Коровы, с генотипом CSN3<sup>BB</sup> имели более высокий уровень белка в молоке (3,28 %) по сравнению с животными, имеющими генотип CSN3<sup>AA</sup> (3,18 %). У животных с генотипом CSN3<sup>AB</sup> этот показатель составил 3,19 % и занял промежуточное значение.

Результаты работы позволяют предположить, что генетические варианты гена каппа-казеина важны для селекционной практики, так как их можно использовать в качестве селекционно-генетических маркеров, которые позволят повысить удой и содержание белка в молоке. Это позволит проводить в республике ускоренную селекцию крупного рогатого скота с целью создания стад с высокими технологическими свойствами молока.

**Список использованной литературы.** 1. Влияние гена локуса каппа-казеина на продуктивность коров. / Б. Иолчев [и др.] / Молочное и мясное скотоводство.-2003.-№ 3.- С. 34-35. 2. 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 // М.-2004.-С. 7-22. 3. Зиновьева, Н.А. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных. / Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь, Л.К. Эрнст, Г. Брэм. / ВИЖ.-2002.-122 с. 4. Лавровский, В.В. Оценка генетического разнообразия быков-производителей по генам каппа-казеина, *Boia-DRB 3* и полиморфным белкам крови их дочерей. / В.В. Лавровский, Л.В. Денисенко // Стратегия развития животноводства России – XXI век.-Москва.-2001.-Часть 1.- С. 264-273. 5. Улучшение качества молока коров черно-пестрой породы с использованием ДНК-диагностики. / Л.А. Калашникова [и др.] / Методические рекомендации.- Москва.- Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела.-2007.- С. 33. 6. 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. 7. 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. 8. 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