

УДК 636.2.082.22

Танана Л.А., Епишко Т.И. Пешко В.В.
УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

ГЕН КАППА-КАЗЕИНА КАК МАРКЕР В СЕЛЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА КРАСНОЙ БЕЛОРУССКОЙ ПОРОДНОЙ ГРУППЫ

Определена частота встречаемости генотипов и аллелей по гену каппа-казеина в популяции коров красной белорусской породной группы. Изучена молочная продуктивность и воспроизводительные качества животных с различными генотипами каппа-казеина. Проведен анализ заболеваемости маститом коров с различными генотипами каппа-казеина.

Ключевые слова: красная белорусская породная группа, ген каппа-казеина, генотип, аллель, молочная продуктивность, воспроизводительные качества, мастит.

В процессе интенсификации животноводства в мире произошло резкое уменьшение численности локальных пород сельскохозяйственных животных, обладающих целым рядом ценных хозяйственно-полезных качеств, но не отличающихся высокой продуктивностью. За последние десятилетия исчезло около 30 пород крупного рогатого скота. На грани исчезновения находится 13 аборигенных пород скота, среди которых значится и породная группа красного белорусского скота. Сокращение генофонда – процесс негативный, так как приводит к обеднению генетических ресурсов и снижению возможностей создания новых пород сельскохозяйственных животных, отвечающих запросам общества и требованиям времени. Организация ООН по вопросам продовольствия и сельского хозяйства (ФАО) рекомендует в целях сохранения ценных мировых генетических ресурсов животных воссоздать популяцию красного белорусского скота.

Красный белорусский скот являлся породной группой крупного рогатого скота Беларуси молочного направления. Как и остальные красные породы скота Европы, он принадлежит ветви западнославянского скота, который, в свою очередь, был ветвью короткорогатого скота древнего Египта [1]. По типу и происхождению он родственен другим красным породам, в образовании которых решающую роль сыграло использование ангельнской, а затем красной датской пород [2].

Необходимо также отметить, что скот красной белорусской породной группы являлся ценным по таким показателям, как жирномолочность и белковомолочность. Не следует также забывать, что данная породная группа выведена на основе местного скота, то есть скота, хорошо приспособленного к природным условиям нашей республики.

Для красного белорусского скота были утверждены следующие стандарты по хозяйственно-полезным признакам. По удою за 305 дней лактации: по I лактации – 2600 кг, по II лактации – 3000 кг и по III лактации – 3400 кг молока. Стандарт по содержанию жира в молоке составил 3,8 %, а по содержанию белка в молоке – 3,3 %. Требования стандарта по количеству молочного жира за 305 дней лактации составили 99 кг по I лактации, 114 кг по II лактации и 129 кг по III лактации [3].

К сожалению, достижения селекционеров, других специалистов, руководителей хозяйств и племенной службы, работавших над совершенствованием красного

белорусского скота не были полностью востребованы из-за недокорма животных. Без достаточного научного обоснования в 1975 г. Министерством сельского хозяйства БССР был издан приказ (во исполнение постановления Совета Министров БССР от 12.02.1975 г., № 29), которым предусматривалось «...полностью заменить симментализированный скот и скот красных и бурых пород животными черно-пестрой породы в Брестской, Гомельской и Минской областях к 1982 г., Витебской, Гродненской и Могилевской областях к 1995 г.». По этой причине была прекращена целенаправленная селекционно-племенная работа с красной белорусской породной группой крупного рогатого скота. Однако до настоящего времени в бывшем племзаводе «Новый двор» а сейчас ЧСУП «Новый Двор – Агро» Свислочского района Гродненской области используются животные красной белорусской породной группы.

До недавнего времени использование генетических методов в селекции животных со стороны практиков вызывало много вопросов, отчасти потому, что большинство количественных признаков имеют полигенный характер наследования, что осложняет ведение селекционной работы. Однако, разработка новых методов молекулярно-генетического анализа предоставила практическую возможность использования ДНК-маркеров в селекции. В настоящее время особое внимание уделяется локусу гена одного из основных молочных белков – каппа-казеина. Известно, что аллельные варианты молочного белка каппа-казеина связаны с показателями белкомолочности и технологическими свойствами молока при изготовлении молочных продуктов [4, 5, 6].

Исследования, проведенные Т.И. Епишко и др. [7], показывают, что генотип $CSN3^{AB}$ и аллель $CSN3^B$ гена каппа-казеина оказывают положительное влияние на устойчивость коров белорусской черно-пестрой породы к заболеванию маститом, что свидетельствует о целесообразности использования $CSN3^{AB}$ и аллеля $CSN3^B$ в качестве маркера при создании резистентных к данному заболеванию стад.

Существует ряд объективных и субъективных причин, препятствующих широкому развертыванию использования ДНК-маркеров в селекционной работе на уровне племенных и товарных хозяйств. Тем не менее, потребности селекционной практики в эффективном ДНК-маркировании продуктивных качеств животных возрастают с каждым годом, и результаты научных исследований оказываются востребованными.

В связи с вышеизложенным, целью работы явилось применение ДНК-диагностики по гену каппа-казеина в маркерной селекции крупного рогатого скота красной белорусской породной группы для отбора животных с более высокой молочной продуктивностью.

Материал и методика исследований. Полиморфизм гена каппа-казеина изучен в популяции 68 коров красной белорусской породной группы, содержащихся в ЧСУП «Новый Двор – Агро» Свислочского района Гродненской области

Ядерную ДНК выделяли из ткани (ухо) перхлоратным методом. Основные растворы для выделения ДНК, амплификации и рестрикции готовили по Т. Маниатису, Э. Фрич, Дж. Сэмбруку [8]. Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали олигонуклеотидные праймеры: CAS1: 5' -ATA GCC AAA TAT ATC CCA ATT CAG T- 3' и CAS2: 5'- TTT ATT AAT AAG TCC ATG AAT CTT G -3'. Концентрацию ДНК, специфичность амплификата и результаты рестрикции оценивали электрофоретическим методом в агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, с помощью трансиллюминатора в проходящем УФ-свете с длиной волны 260 нм. В качестве маркера использовали ДНК плазмиды pBR322, расщепленную рестриктазой AluI. По 10 мкл амплификата расщепляли рестриктазой HindIII при температуре 37°C в течение 4-х часов. Продукты рестрикции разделяли электрофоретически в 4%

агарозном геле при напряженні 100 вольт, в течение 1 часа. Для анализа распределения рестрикционных фрагментов ДНК в агарозном геле после электрофореза использовали компьютерную видеосистему и программу VItran.

Молочную продуктивность коров красной белорусской породной группы с различными генотипами каппа-казеина изучали по полновозрастной лактации. У животных учитывали удои, содержание жира и белка, выход молочного жира и белка за 305 дней лактации. Молочную продуктивность подопытных коров определяли при помощи проведения ежемесячных контрольных доений. Показатели качества молока коров (содержание белка, %; жира, %; лактозы % и соматических клеток тыс/мл) определяли в Гродненской молочной лаборатории РУСП «Гродненское племпредприятие» методом проточной цитометрии при помощи прибора «Комбископ».

По данным зоотехнического и племенного учета определяли воспроизводительные качества коров с различными генотипами каппа-казеина (продолжительность сервис-периода, межотельного и сухостойного периодов, продолжительность стельности, индекс осеменения).

Для подсчета микроорганизмов в молоке и определения мастита у коров с различными генотипами каппа-казеина использовали тест «Kerba». Первые три струйки молока, в которых содержится наибольшее количество бактерий и микроорганизмов, сдаивали в специальную кружку из-за высокого содержания микроорганизмов. Затем молоко следующих струек впрыскивали в соответствующие области испытательной чаши и вводили испытательную жидкость. Медленными вращательными движениями чаши испытательную жидкость смешивали с молоком. Через несколько секунд получали информацию о наличии или отсутствии мастита, руководствуясь инструкцией по применению теста:

- в смеси видны ярко выраженные полосы и она становится более густой, что свидетельствует о количестве микроорганизмов от 500 до 1000 тыс. – мастит;
- при медленном наклонении на смеси появляются слегка выраженные полосы, легко распознаваемые на разделительной линии – 200-500 тыс. микроорганизмов – необходимо наблюдение за здоровьем вымени;
- смесь выявляет очень ярко выраженные полосы и представляет собой крепкую желатиновую массу с изменением цвета вплоть до красно-синего – от 1000 тыс. микроорганизмов – тяжелый мастит;
- смесь остается жидкой, без полосок – до 200 тыс. микроорганизмов – мастит не установлен.

Результаты исследований и их обсуждение. В настоящее время в Республике Беларусь практически отсутствует характеристика генофонда сельскохозяйственных животных по полиморфизму генов, связанных с продуктивностью, устойчивостью к заболеваниям, адаптационной способностью. В тоже время эта характеристика является необходимой для принятия решений по вопросам сохранения и рационального использования генофонда сельскохозяйственных животных. Особую значимость маркирование признаков молочной продуктивности приобретает при воссоздании отечественного генофонда крупного рогатого скота красной белорусской породной группы, характеризующегося высокой адаптационной способностью к природным условиям Беларуси и высокой белково-молочностью.

Анализ распределения генотипов каппа-казеина в популяции коров красной белорусской породной группы в ЧСУП «Новый Двор – Агро» (рисунок 1) позволил установить преобладание животных с генотипом CSN3^{AA} (67,6 %) над животными с генотипом CSN3^{AB} (26,5 %). Генотип CSN3^{BB} был выявлен только у четырех животных

из исследуемой группы (5,9 %). Соотношение частот аллеля $CSN3^A$ и $CSN3^B$ (рисунок 2) в популяции коров красной белорусской породной группы находилось на уровне 0,809 и 0,191 соответственно

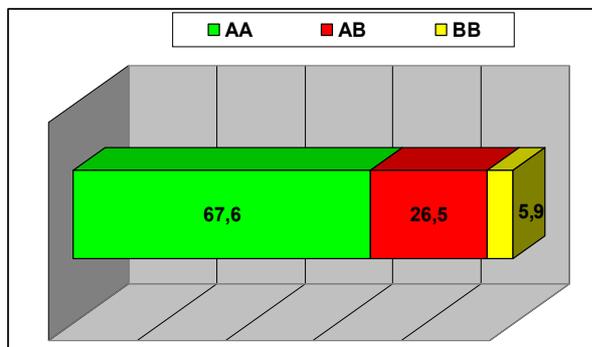


Рисунок 1 – Частота встречаемости генотипов каппа-казеина в популяции коров красной белорусской породной группы, %

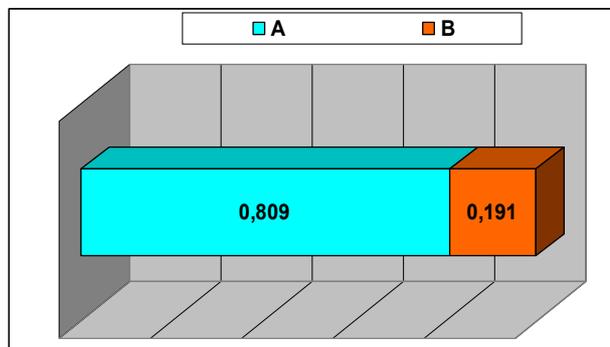


Рисунок 2 – Частота встречаемости аллелей гена каппа-казеина в популяции коров красной белорусской породной группы

Увеличение продуктивности скота и производства высококачественных продуктов животноводства во многом зависит от эффективности селекционно-племенной работы. При решении данной проблемы необходимо быстрое, широкое и целенаправленное внедрение новых научных достижений и передового опыта в области качественного совершенствования существующих, а также создание на их базе новых, более высокопродуктивных пород, линий и типов, отвечающих требованиям промышленной технологии. Характерная особенность современного развития молочного скотоводства заключается в быстром росте генетического потенциала продуктивности молочных коров, который позволяет повышать не только удои, но и белково-молочность и жирномолочность.

Таблица 1. Молочная продуктивность полновозрастных чистопородных коров красной белорусской породной группы

Показатели	Генотип		
	$CSN3^{AA}$ (n=46)	$CSN3^{AB}$ (n=18)	$CSN3^{BB}$ (n=4)
Удой, кг	4939,2±78,4	5066,4±60,5	5101,0±77,9
Жир, %	4,33±0,04	4,45±0,04*	4,60±0,06***
Белок, %	3,36±0,03	3,47±0,03*	3,79±0,04***
Молочный жир, кг	213,9±5,7	225,5±4,8	234,6±5,1***
Молочный белок, кг	166,0±4,3	175,8±4,9	193,3±4,4***
Лактоза, %	5,32±0,06	5,41±0,09	5,52±0,09
Соматические клетки, тыс/мл	370,2±84,0	340,8±133,2	299,3±36,0

Примечание: * – межгрупповые различия между группами животных с генотипом $CSN3^{AB}$ и $CSN3^{AA}$ статистически достоверны при $P < 0,05$

*** – межгрупповые различия между группами животных с генотипом $CSN3^{BB}$ и $CSN3^{AA}$ статистически достоверны при $P < 0,001$

Необходимо признать, что для использования гена каппа-казеина в качестве маркера в селекции на повышение белкомолочности коров недостаточно изучить полиморфизм и выявить его достоверное влияние на продуктивные качества животных, необходимо исключить возможность отрицательного плейотропного эффекта данного гена на ряд селекционируемых признаков и показателей жизнедеятельности. В связи с чем нами изучено плейотропное действие гена каппа-казеина на воспроизводительные качества коров (таблица 2).

Таблица 2. Характеристика воспроизводительных качеств полновозрастных коров красной белорусской породной группы различных генетических групп по гену каппа-казеина

Показатели	Генотип		
	CSN3 ^{AA}	CSN3 ^{AB}	CSN3 ^{BB}
Продолжительность сервис-периода, дней	112±45,7	115±35,9	107±16,2
Продолжительность сухостойного периода, дней	54±1,2	55±1,4	55±2,1
Продолжительность стельности, дней	278±1,7	279±1,8	279±0,5
Продолжительность межотельного периода, дней	390±16,9	394±36,2	386±25,1
Индекс осеменения	1,94	1,90	2,00

Анализ данных таблицы 2 свидетельствует о том, что у коров красной белорусской породной группы с генотипом CSN3^{BB} продолжительность сервис-периода была на 5 дней короче, чем у животных с генотипом CSN3^{AA} и на 8 дней короче, чем у животных с генотипом CSN3^{AB}. У коров с генотипом CSN3^{AA} отмечено снижение продолжительности сухостойного периода и стельности на 1 день, по сравнению с животными двух других групп. Межотельный период у всех подопытных групп животных превысил 365 дней, что является негативной тенденцией и причиной недополучения телят на 100 коров. Индекс осеменения у животных красной белорусской породной группы находился в пределах 1,90 – 2,00.

Результаты анализа заболеваемости коров с различными генотипами каппа-казеина маститом представлены в таблице 3.

Таблица 3. Заболеваемость коров с различными генотипами каппа-казеина маститом

Генотип каппа-казеина	Количество коров, больных маститом	
	голов	%
CSN3 ^{AA}	8	17,4
CSN3 ^{AB}	1	5,6
CSN3 ^{BB}	—	—

Данные таблицы свидетельствуют о том, что чаще встречался мастит у коров с генотипом CSN3^{AA} – 17,4%, что на 11,8% выше, чем у животных с генотипом CSN3^{AB}. Среди животных с генотипом CSN3^{BB} мастит не обнаружен. Проведенные исследования указывают на возможность применения гена каппа-казеина в качестве маркера при создании стад крупного рогатого скота устойчивых к маститу.

Выводы. Таким образом, красная белорусская породная группа является ценной популяцией местного скота, отличающейся приспособленностью животных к местным условиям, неприхотливостью, крепким здоровьем, хорошими воспроизводительными

качествами, молочной продуктивностью, повышенным содержанием в молоке белка и жира. Несмотря на большие потери в поголовье и качестве животных, произошедшие в результате непоследовательной деятельности руководящих органов, красный белорусский скот еще можно и нужно сохранить для использования в пороодообразовательном процессе. При этом основополагающим фактором, при воссоздании стад красного белорусского скота, является использование ДНК-технологий в селекционном процессе, позволяющим отбирать животных с лучшим качеством молока, пригодным для получения высококачественных молочных продуктов.

Література

1. Гайко, А.А. Красный белорусский скот / А.А. Гайко, С.И. Тузов, М.П. Гринь. – Минск: Ураджай, 1968. – 142 с.
2. Красный белорусский крупный рогатый скот / С.И. Тузов [и др.]. – Минск: Госиздат БССР, 1961. – 50 с.
3. Инструкция по бонитировке крупного рогатого скота молочных и молочно-мясных пород. – М.: Колос, 1990 – 20 с.
4. Аллипаных, М. Генотипирование популяции крупного рогатого скота по локусу гена каппа-казеина / М. Аллипаных // Материалы научной конференции молодых ученых и специалистов МСХА. – Москва, 2005. – С. 245-247.
5. Калашникова, Л.А. Возможности использования ДНК-маркеров продуктивных качеств животных в практической селекционной работе / Л. А. Калашникова // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных: материалы междунауч. конф. – Дубровицы, 2003. – С. 33-39.
6. Калашникова, Л.А. Влияние генотипа каппа-казеина на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы / Л.А. Калашникова, Е.А. Денисенко, А.Ш. Тинаев // Сб. науч. тр. / Ин-т животноводства Нац. акад. наук Беларуси. – Жодино, 2004. – Т. 39: Зоотехническая наука Беларуси. – С. 50-55.
7. ДНК-диагностика возбудителей и маркеры генетической устойчивости к маститам / Т.И. Епишко [и др.] / Сб. науч. тр. «Сельское хозяйство – проблемы и перспективы». – УО «ГГАУ», Гродно, 2010. – Т.1. – С. 63-69.
8. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук. – Москва: Мир, 1984. – 480 с.

References

1. Haiko, A.A. Krasnyi beloruskyi skot / A.A. Haiko, S.Y. Tuzov, M.P. Hryn. – Mynsk: Uradzhai, 1968. – 142 s.
2. Krasnyi beloruskyi krupnyi rohatyi skot / S.Y. Tuzov [y dr.]. – Mynsk: Hosyzdat BSSR, 1961. – 50 s.
3. Ynstruktsyia po bonytyrovke krupnoho rohatoho skota molochnykh y molochno-miasnykh porod. – M.: Kolos, 1990 – 20 s.
4. Allypanakh, M. Henotypyrovanye populiatsyy krupnoho rohatoho skota po lokusu hena kappa-kazeyna / M. Allypanakh // Materyaly nauchnoi konferentsyy molodykh uchenykh y spetsyalystov MSKhA. – Moskva, 2005. – S. 245-247.
5. Kalashnykova, L.A. Vozmozhnasty yspolzovanyia DНК-markerov produktyvnykh kachestv zhyvotnykh v praktycheskoi selektsyonnoi rabote / L. A. Kalashnykova // Sovremennye dostyzheniya y problemy byotekhnolohyy selskokhoziaistvennykh zhyvotnykh: materyaly mezhd. nauch. konf. – Dubrovitsy, 2003. – S. 33-39.
6. Kalashnykova, L.A. Vlyiane henotyipa kappa-kazeyna na molochnuiu produktyvnost korov cherno-pestroi porody / L.A. Kalashnykova, E.A. Denysenko, A.Sh. Tynaev // Sb. nauch. tr. / Yn-t

zhyvotnovodstva Nats. akad. nauk Belarusy. – Zhodyno, 2004. – Т. 39: Zootekhnicheskaya nauka Belarusy. – S. 50-55.

7. DNK-dyagnostyka vzbudytelei y markery henetycheskoi ustoichyvesty k mastytam / Т.У. Ерышко [у др.] / Sb. nauch. tr. «Selskoe khoziaistvo – problemy y perspektivy». – УО «ННАУ», Hrodno, 2010. – Т.1. – S. 63-69.
 8. Manyatys, Т. Molekuliarnoe klonyrovanye / Т. Manyatys, Э. Frych, Dzh. Səmbрук. – Moskva: Myr, 1984. – 480 s.
-

УДК 636.2.082.22

ГЕН КАППА-КАЗЕИНА КАК МАРКЕР В СЕЛЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА КРАСНОЙ БЕЛОРУССКОЙ ПОРОДНОЙ ГРУППЫ / Танана Л.А., Епешко Т.И., В.В. Пешко

Определена частота встречаемости генотипов и аллелей по гену каппа-казеина в популяции коров красной белорусской породной группы. Изучена молочная продуктивность и воспроизводительные качества животных с различными генотипами каппа-казеина. Проведен анализ заболеваемости маститом коров с различными генотипами каппа-казеина.

Ключевые слова: красная белорусская породная группа, ген каппа-казеина, генотип, аллель, молочная продуктивность, воспроизводительные качества, мастит.

UCC 636.2.082.22

KAPPA-CASEIN GENE AS A MARKER IN THE BREEDING OF CATTLE BELARUSIAN RED BREED GROUP / Tanana L.A., Epishko T.I., V.V. Peshko

Frequency of occurrence of genotypes and alleles on a gene a kappa-casein in population of cows of red Belarus pedigree group is defined. Dairy efficiency and reproductive qualities of animals from times-personal by genotypes a kappa-casein is studied. The analysis of disease of mastitis of cows with various genotypes a kappa-casein is carried out.

Keywords: red Belarus pedigree group, a gene a kappa-casein, a genotype, allele, dairy efficiency, reproductive qualities, mastitis.

*Рецензент: Доброньцька В.О., кандидат с.-г. наук, доцент,
Вінницький національний аграрний університет*