

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

УДК 636.2.034.637.12.04/.07:575

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ КАПА-КАЗЕЇНУ ТА ТИРЕОГЛОБУЛІНУ В ПОПУЛЯЦІЯХ МОЛОЧНИХ ПОРІД ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЗАХІДНОЇ УКРАЇНИ

Березовський О.В., м. н. с.,
ol11111bz@gmail.com

*Інститут розведення і генетики тварин ім. М.В. Зубця НААН,
с. Чубинське Київської обл.*

Саранчук І.І., к. с.-г. н., с. н. с.,
ivanvet@mail.ru

Калинка А.К., к. с.-г. н., с. н. с.

*Буковинська державна сільськогосподарська дослідна
станція НААН, м. Чернівці*

Анотація. Представлено результати оцінки поліморфізму генів капа-казеїну та тиреоглобуліну в популяціях української червоно-рябої молочної породи та української чорно-рябої молочної породи великої рогатої худоби трьох господарств Західної України, з використанням методу ПЛР-ПДРФ. Встановлені частоти алелей і генотипів в кожному з господарств і досліджено вплив генотипу на показники молочної продуктивності в корів.

В корів української чорно-рябої молочної породи з генотипом AB за геном капа-казеїну виявлено достовірно вищий ($p<0,01$) вміст білка в молоці, ніж в корів з генотипом AA.

Ключові слова: молочні породи великої рогатої худоби, поліморфізм, локуси кількісних ознак, капа-казеїн, тиреоглобулін.

Актуальність проблеми. За останні тридцять років були проведені широкомасштабні дослідження в різних країнах з вивчення генетичного поліморфізму білків молока. В результаті цих досліджень були встановлені частоти їх алельних варіантів у тварин різних порід великої рогатої худоби. Одержано масив даних щодо впливу алельних варіантів цих генів на показники молочної продуктивності, що дає можливість їх застосування для вдосконалення існуючих методів селекції в молочному скотарстві [1, 2, 3, 4].

Одним із найважливіших генів асоційованих із кількістю білка в молоці, є ген капа-казеїну (*k-Cn*), який локалізований в 6 хромосомі. Варіанти капа-казеїну A і В відрізняються двома амінокислотними замінами – Thr136(ACC)/Ile(ATC) та Asp148(GAT) /Ala(GCT) відповідно [1]. Встанов-

лено, що алель В *k-Cn* пов'язаний із більшим вмістом білків у молоці і має кращі показники часу сичужного зсідання молока та щільноті одержаного сиру [2]. Було також показано вплив генотипу ВВ на підвищення вмісту жиру і білка в стадах молочних порід проведених в Україні [3, 5]. В таких країнах як Німеччина та США селекція за алелем В включена в програми з розведення великої рогатої худоби [4].

Тиреоглобулін (*TG5*) є глікопротеїновим гормоном, який синтезується у фолікулярних клітинах щитовидної залози. Він є попередником трийодтиронину (T3) та тетрайодтиронину (T4), які беруть участь у рості жирових клітин, їх диференціації та гомеостазі жирових відкладень [6]. Ген тиреоглобуліну розташований на 14 хромосомі і має розмір 1068 п.н. Точки заміни С→Т у позиції 422 гена тиреоглобуліну викликає появу двох алельних варіантів [7]. Визначено вплив поліморфізму тиреоглобуліну на мармуровість м'яса у великої рогатої худоби [8]. Для популяцій великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності характерна досить висока частота бажаного алеля Т. Наприклад, за даними проведених досліджень в Україні, для породи абердин-ангус частота алеля Т встановлена на рівні 0,240; симентальської породи – 0,400; сірої української – 0,405 [9]. За даними російських авторів, у корів з генотипами СС спостерігалась тенденція до збільшення вмісту білка і жиру в молоці порівняно із носіями генотипу СТ [10]. В іншому дослідженні проведенню з російськими породами, навпаки, було показано достовірно вищі показники жирномолочності в корів, що є носіями генотипу СТ ніж з генотипом СС [11].

Мета роботи – провести аналіз генетичної структури популяцій молочної худоби різних господарств Західної України за генами капа-казеїну та тиреоглобуліну, пов'язаними із формуванням якісних показників молочної продуктивності.

Матеріал і методи дослідження. Оцінку поліморфізму гена *k-Cn* та *TG5* проводили методом ПЛР-ПДРФ на зразках ДНК, що виділені з крові 138 тварин української червоно-рябої молочної породи (СВК «Зоря», Чернівецька обл., 61 гол.) та української чорно-рябої молочної породи (ФГ «Лелик» Львівська обл., 50 гол.; ПФГ «Поточище», Івано-Франківська обл., 27 гол.).

Оцінку поліморфізму генів капа-казеїну та тиреоглобуліну проводили методом ПЛР-ПДРФ на зразках ДНК виділених з крові тварин. Виділяли ДНК з використанням стандартного комерційного набору «ДНК-сорб-В» виробництва компанії «АмпліСенс» (НДІ Епідеміології, Москва, Росія) згідно рекомендації виробника.

Для проведення ПЛР в роботі використовували реакційну суміш об'ємом 10 мкл: 5,6 мкл H₂O; 1,5 мкл буфера ПЛР 5-х (15 мг-1,0 мол); 0,5 мкл dNTP суміші 10-х (2ММ кожного); 0,8 мкл двох праймерів (70 нг

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

кожного); 0,1 мкл Таq-полімерази (1 мол/1000 U); 1,5 мкл ДНК 50-100 нг.

Для ампліфікації фрагменту гена *k-Cn* використовували наступні праймери:

5'-GAAATCCCTACCACATCAATACC-3',
5'-CCATCTACCTAGTTAGATG-3' [1].

Довжина ампліфікованого фрагменту складає 273 п.н. Після рестрикції цього фрагменту рестриктазою *HinfI*, виявляються два алельних варіанти A і В гену *k-Cn*.

Для ампліфікації гену тиреоглобуліну (*TG5*) були використані праймери:

5'-GGGGATGACTACGAGTATGACTG-3',
5'-GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGT-3' [12].

Довжина ампліфікованого фрагменту складає 548 п.н. Для виявлення алельних варіантів С і Т гена *TG5* продукт ампліфікації обробляли рестриктазою *PstI*.

Електрофоретичне розділення рестриктних ферментів ДНК проводилося в 2 % агарозному гелі. Візуалізацію проводили на трансілюмінаторі в УФ-світлі при довжині хвилі 380 нм після забарвлення гелю етидіем бромідом. Розмір ДНК-продуктів визначали за допомогою маркеру молекулярних мас Ladder Low Range.

Статистична обробка даних проводилася за стандартними методиками [13] з використанням програмного забезпечення MS Excel, STATISTICA 10.

Результати дослідження. Встановлено частоти генотипів та алелей за генами капа-казеїну (рис. 1) та тиреоглобуліну (рис. 2) в кожній з трьох досліджуваних популяцій.

За розподілом частот алелей і генотипів за геном *k-Cn* в тварин досліджених популяцій трьох господарств спостерігалась тенденція до збільшення концентрації алеля А (табл. 1). Низька концентрація В алельного варіанту серед досліджених популяцій української червоно-рябої молочної та української чорно-рябої молочної порід пояснюється тим, що в створенні вітчизняних порід використовували бугайів голштинської породи, популяції яких несуть не більше 20 % цього алеля.

Отриманий результат узгоджується з літературними даними щодо низької частоти алеля В в більшості популяцій українських молочних порід в порівнянні із зарубіжними породами великої рогатої худоби [14, 15]. Можливою причиною є добір тварин лише за надоєм, що впливає на збільшення частоти альтернативного алеля А за геном капа-казеїну.

В тварин української чорно-рябої молочної породи господарств ПФГ «Поточище» та ФГ «Лелик» і української червоно-рябої молочної породи, переважали носії генотипу СС за геном *TG5* (табл. 2).

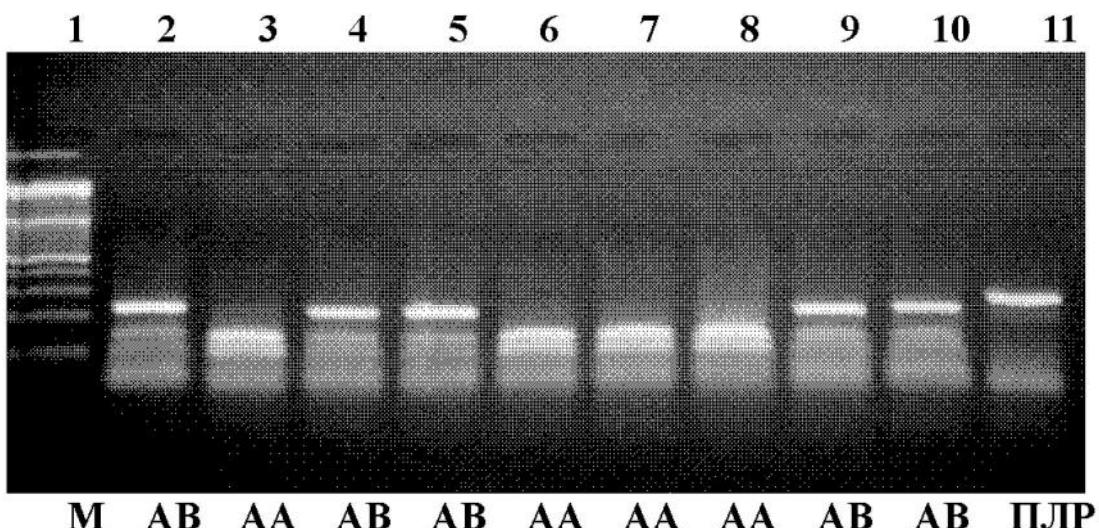


Рис. 1. Електрофореграма розділення продуктів рестрикції гена капа-казеїну у ВРХ. Доріжки: 1 – маркер молекулярних мас DNA Ladder, GeneRuler™ 100 bp; 3, 6, 7, 9 – гомозиготні тварини з генотипом AA (133, 91, 49 п.н.); 2, 4, 5, 9, 10 – гетерозиготні тварини з генотипом AB (224, 133, 91, 49 п.н.); 11 – ПЛР продукт без рестрикції (273 п.н.)

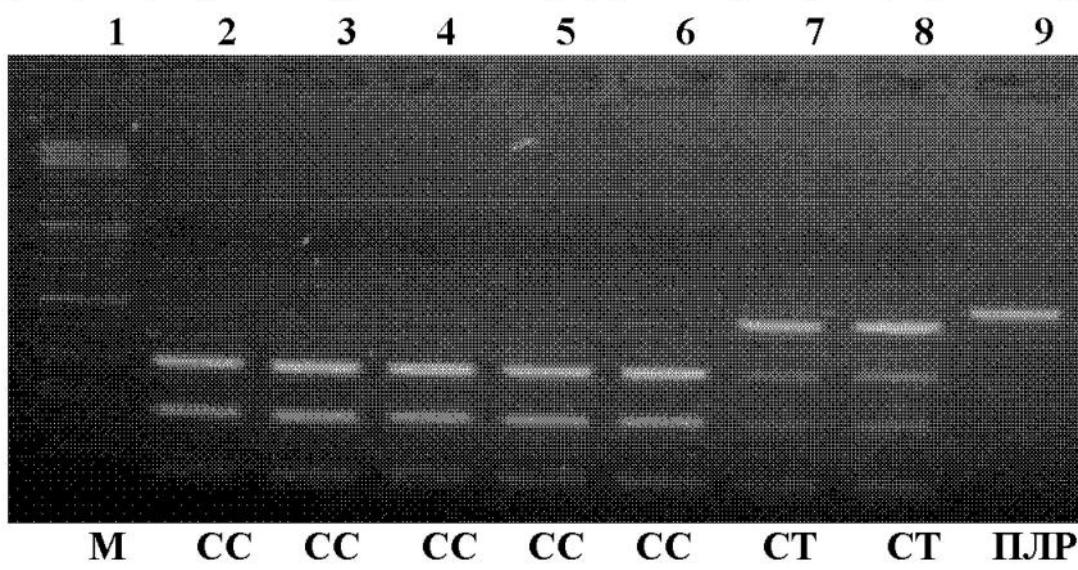


Рис. 2. Продукти рестрикції гена TG5. Доріжки: 1 – маркер молеку-лярних мас DNA Ladder; 2-6 – тварини з генотипом CC (75, 178, 295 п.н.); 7, 8 – тварини з генотипом CT (75, 178, 295, 473 п.н.); 9 – ПЛР продукт, 548 п.н.

Низька частота алеля Т гена *TG5* у популяціях великої рогатої худоби, що належать до порід молочного напряму продуктивності в порівнянні із частотою цього алеля в популяціях м'ясних порід великої рогатої худоби [9], може свідчити про вплив добору тварин певного напрямку селекції ВРХ на зміну частоти алеля Т, оскільки він впливає на прояв ознаки

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

Таблиця 1

Частоти алелей і генотипів в трьох досліджуваних популяцій молочної худоби за геном *k-Sn*

Порода	Госпо-дарство	n	Частота генотипу			Частота алеля	
			AA	AB	BB	A	B
Українська червоно-ряба молочна	СВК «Зоря»	61	0,840	0,140	0,020	0,910	0,090
Українська чорно-ряба молочна	ФГ «Лелик»	50	0,560	0,440	0	0,780	0,220
	ПФГ «Поточище»	27	0,556	0,370	0,074	0,741	0,259

Таблиця 2

Частоти алелей і генотипів в трьох досліджуваних популяцій молочної худоби за геном *TG5*

Порода	Господарство	n	Частота генотипу			Частота алеля	
			CC	CT	TT	C	T
Українська червоно-ряба молочна	СВК «Зоря»	61	0,704	0,273	0,023	0,841	0,159
Українська чорно-ряба молочна	ФГ «Лелик»	50	0,920	0,080	0	0,960	0,040
	ПФГ «Поточище»	27	0,815	0,185	0	0,907	0,093

мармуровості м'яса і є бажаним саме для м'ясних порід.

Висока концентрація алеля С за геном тиреоглобуліну в досліджених популяціях молочних порід може бути пов'язана із його позитивним впливом на показники жирності молока, що було показано на прикладі проведених подібних досліджень російськими авторами [10, 11].

Достовірної різниці за вмістом жиру в молоці корів з різними генотипами за геном *TG5* не було виявлено, що може бути пов'язано із низькою частотою тварин з окремими генотипами і потребою проведення таких досліджень на більшій вибірці молочної худоби.

Встановлено достовірно ($P<0,01$) вищий вміст білка в молоці корів української чорно-рябої молочної породи господарства ФГ «Лелик» з генотипом AB за геном капа-казеїну в порівнянні з групою з генотипом AA, що показано за результатами отриманими за допомогою однофакторного

дисперсійного аналізу і свідчить про позитивний вплив алеля В на збільшення вмісту білка в молоці корів (рис. 3).

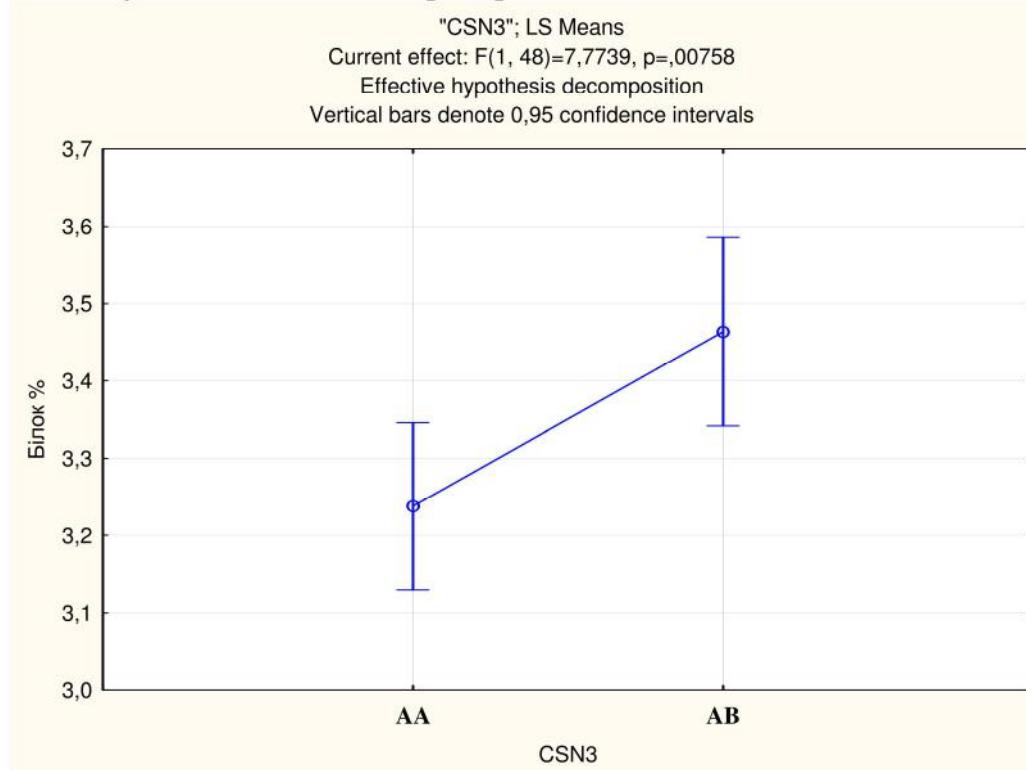


Рис. 3. Результати однофакторного дисперсійного аналізу отриманого за допомогою програми STATISTICA 10 для вмісту білка в молоці корів з генотипами АВ та ВВ за геном капа-казеїну

Висновки

1. Встановлено частоти алелей та генотипів за генами капа-казеїну та тиреоглобуліну в трьох популяціях молочної худоби Західної України.

2. Підвищений вміст білка в молоці корів української чорно-рябої молочної породи ФГ «Лелик» з генотипом АВ підтверджують вплив поліморфізму гена капа-казеїну на прояв даної ознаки і можливість використання даного генетичного маркера для вдосконалення існуючих методів селекції у вітчизняному молочному скотарстві за прикладом країн із розвинутим тваринництвом, оскільки отримані нами дані підтверджуються в подібних дослідженнях як закордонних так і вітчизняних авторів проведеними з різними породами великої рогатої худоби.

3. За поліморфізмом гена *TG5* у всіх дослідженіх популяціях молочних порід спостерігалась досить низька частота алеля Т, який є бажаним для м'ясних порід і асоційований із мармуровістю м'яса. Тому зменшення частоти алеля Т в популяціях молочних порід вказує вплив факторів штучного добору за певними ознаками молочної продуктивності на елімінацію алелю Т та вірогідність позитивного впливу альтернативного алеля С на

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

ступінь їх прояву.

Література

1. Pinder S.J. Analysis of polymorphism in the bovine casein genes by use of polymerase chain reaction / S.J. Pinder, B.N. Perry, C.J. Skidmore, D.Savva // Anim. Genet. – 1991. – Vol. 22. – P. 11–20.
2. McLean D.M. Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition / D.M. McLean, E.R. Graham, R.W. Ponzoni, H.A. Mckenzie // J. Dairy Res. – 1985. – Vol. 51. – P. 531–546.
3. Гиль М.І. Аналіз залежності молочної продуктивності корів від поліморфізму окремих структурних генів / М.І. Гиль, О.В. Городна, С.С. Крамаренко, О.Ю. Сметана // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. – Київ, 2011. – Вип. 160. – Ч. 2. – С. 285–293.
4. Schaar J. Effects of genetic variants of κ -casein and β -lactoglobulin on cheese making / J. Schaar, B. Hansson, H.E. Petterson // Journal of dairy research. – 1985. – Vol. 52. – P. 429 – 437.
5. Глазко В.І. Молекулярно-генетичні маркери селекційної роботи і стійкості, щодо чинників екологічного стресу / В.І. Глазко, К.В. Іванченко, Р.В. Облап, Г.В. Глазко // Вісник аграрної науки. – 2002. – № 11. – С. 17.
6. Ailhaund G. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development / G. Ailhaund // Annu Rev. Nutr. – 1992. – Vol. 12. – P. 207–233.
7. Casas E. Assessment of single nucleotide polymorphism s in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in Bos indicus cattle / E. Casas // J. Anim. Sci. – 2005. – Vol. 83. – P. 13–19.
8. Marina Fortes R.S. Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meatten derness / R.S. Marina Fortes // Genetics and Molecular Biology. – 2009. – Vol. 32. – P. 75–82.
9. Добрянська М.Л. Поліморфізм гена тиреоглобуліну (TG) в популяціях великої рогатої худоби м'ясного напрямку продуктивності / М.Л. Добрянська, К.В. Копилов // Розведення і генетика тварин: міжвід. тем. наук. зб. – К., 2012. – Вип. 46. – С. 273–274.
10. Ларионова П.В. Разработка и экспериментальная апробация системы анализа полиморфизма генов-кандидатов липидного обмена у крупного рогатого скота: автореф. дис. на соискание учёной степени канд. биол. наук: спец. 03.00.23 «Биотехнология»; 06.02.01 «Разведение, селекция, генетика и воспроизводство сельскохозяйственных животных» / П.В. Ларионова. – Дубровицы, 2006.
11. Харзинова В.Р. Изучение генотипов ДНК-маркеров GH, DGAT1 и

TG5 в связи с линейной принадлежностью и уровнем молочной продуктивности коров черно-пестрой породы: автореф. дис. на соискание учёной степени канд. биол. наук: спец. 03.02.07 «Генетика» / В.Р. Харзинова. – Дубровицы, 2011.

12. Alison V.E. Marker - assisted selection in beef cattle / V.E. Alison // UC Davis. – 2007. – Р. 1–2.

13. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н.А. Плохинский – М.: Колос, 1969. – 255 с.

14. Miceikiene I. Association of cattle genetic markers with performance traits / I. Miceikiene // Biologija. – 2006. – 1. – P. 24–29.

15. Tambasco M.D. Detection of polymorphism of κ -casein, β -lactoglobulin genes in animals breed Jersey. Monografia: Universidad Federal de Sao Carlos. S.P., 1998.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ КАППА-КАЗЕИНА И ТИРЕОГЛОБУЛИНА
В ПОПУЛЯЦИЯХ МОЛОЧНЫХ ПОРОД КРУПНОГО РОГАТОГО
СКОТА ЗАПАДНОЙ УКРАИНЫ**

Березовский А.В., м. н. с.,
ol11111bz@gmail.com

Институт разведения и генетики животных им. М.В. Зубца НААН,
с. Чубинське Киевской обл.

Саранчук И.И., к. с.-х. н., с. н. с.,
ivanvet@mail.ru

Калинка А.К., к. с.-х. н., с. н. с.

Буковинская государственная сельскохозяйственная опытная
станция НААН, г. Черновцы

Аннотация. Представлены результаты оценки полиморфизма генов каппа-казеина и тиреоглобулина в популяциях украинской красно-рябой молочной породы и украинской черно-пестрой молочной породы крупного рогатого скота трех хозяйств Западной Украины, с использованием метода ПЦР-ПДРФ. Установленные частоты аллелей и генотипов в каждом из хозяйств, исследовано влияние генотипа на показатели молочной продуктивности у коров.

В коров украинской черно-пестрой молочной породы с генотипом АВ за геном каппа-казеина выявлено достоверно выше ($p < 0,01$) содержание белка в молоке, чем у коров с генотипом АА.

Ключевые слова: молочные породы крупного рогатого скота, полиморфизм, локусы количественных признаков, каппа-казеин, тиреоглобулин.

**GENE POLYMORPHISM KAPPA-CASEIN AND THYROGLOBULIN
IN THE POPULATION DAIRY CATTLE BREEDS OF
WESTERN UKRAINE**

Berezovsky A.V., junior researcher,
ol11111bz@gmail.com

Institute of Animal Breeding and Genetics them. M.V. Zubtsya NAAS, Chubinskoe, Kiev region.

Saranchuk I.I., candidate of agricultural sciences, senior researcher,
ivanvet@mail.ru

Kalynka A.K., candidate of agricultural sciences, senior researcher
Bukovyna State Agricultural Experimental Station, NAAS, Chernivtsi

Summary. The results of evaluation of polymorphisms of genes kappa-casein and Ukrainian populations thyroglobulin in red-and-white dairy cattle and Ukrainian black-and-white dairy cattle breeds three farms in Western Ukraine, using PCR-RFLP. The frequency of alleles and genotypes in each of the farms and the effect of genotype on milk production parameters in cows.

In cows Ukrainian black-and-white dairy cattle with genotype AB for kappa-casein gene revealed significantly higher ($p < 0,01$) protein content in milk than cows with genotype AA.

Key words: dairy cattle breeds, polymorphism, quantitative traits loci, kappa-casein, thyroglobulin.
