

УДК 636.237.21.082.13

ПАРНОЕ РАЗЛИЧИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОРОД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО ЛАКТОПРОТЕИНАМ

Татьяна ЛУПОЛОВА¹, Валентина ПЕТКУ²,
Елена ГУМИНСКАЯ¹, Анастасия МАКАРОВА¹

¹Мозырский государственный педагогический университет
имени И.П. Шамякина, Республика Беларусь

²Государственный аграрный университет Молдовы

Abstract. The work is aimed at studying the genetic polymorphism of the milk protein loci in Holstein and Black Pied breeds and determining the genetic distance and similarity of these breeds. A total of 371 milk samples were collected from cows from two breeding farms. The population allele pool for the lactoproteins $\alpha SI-CN$, $\beta-CN$, $\kappa-CN$, $\beta-LG$ was determined. Polymorphism was revealed in all loci. The most expressive one was the locus $\alpha SI-CN$. Three alleles (A, B, C) were found in the population of Holstein breed and 4 alleles (A, B, C, D) in the population of Black Pied breed. The locus $\beta-CN$ had two allelic variants: $\beta-CN^A$ and $\beta-CN^B$, the locus $\beta-CN^A$ recording a higher frequency in both populations. The locus $\kappa-CN$ had two alleles (A and B), the allele A recording a higher occurrence in the population of Holstein breed. The value of genetic similarity between the studied populations was of 0,7714.

Key words: Cows; Holstein breed; Black Pied breed; Genotype; Genetic polymorphism; Genetic distance; Lactoproteins.

Реферат. Целью работы является исследование генетического полиморфизма локусов белков молока коров голштинской и черно-пестрой пород и определение генетического расстояния и сходства этих пород. Для исследований была отобрана 371 проба молока от коров из двух племенных ферм. Определён аллелофонд популяций по лактопротеинам $\alpha SI-CN$, $\beta-CN$, $\kappa-CN$, $\beta-LG$. Во всех локусах был выявлен полиморфизм. Более выраженным оказался локус $\alpha SI-CN$. В популяции голштинской породы коров было обнаружено 3 аллеля (A, B, C), в популяции черно-пестрой породы – 4 аллеля (A, B, C, D). Локус $\beta-CN$ имел два аллельных варианта $\beta-CN^A$ и $\beta-CN^B$, с наибольшей частотой для $\beta-CN^A$ в обеих популяциях. В локусе $\kappa-CN$ было выявлено 2 аллеля (A и B) с наибольшей встречаемостью аллеля A в популяции голштинской породы. Значение генетического сходства между исследуемыми популяциями составило 0,7714.

Ключевые слова: Коровы; Голштинская порода; Черно-пестрая порода; Генотип; Генетический полиморфизм; Генетическое расстояние; Лактопротеины.

ВВЕДЕНИЕ

Одна из главных задач зоотехнической науки на современном этапе развития животноводства – повышение молочной продуктивности коров и улучшение качественных показателей молока. Решить эту задачу предусматривается, прежде всего, за счет эффективного использования генетических ресурсов животных с применением новейших методов популяционной генетики – маркерной селекции, ДНК-технологий. В европейских странах с развитым молочным скотоводством, в США и Канаде

ДНК-технологии (выявление выгодных генотипов с помощью ПЦР) широко используют в селекционной практике (Ярлыков, Н.Г. 2010; Сулимова, Г.Е. 2006). Широкие возможности перед животноводством в Республике Беларусь открываются в связи с внедрением передовых методов ДНК-технологий. Это поиск генетических маркеров, отвечающих за определенные показатели продуктивности.

Работа лаборатории ДНК-технологий в институте животноводства, созданной при поддержке Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, в 2005 г. позволила интенсифицировать пороодообразовательный процесс в стране. Если раньше на выведение новых пород затрачивалось 20-25 лет, то с использованием новых методов требуется 10-15. Дальнейшее увеличение производства продукции животноводства, повышение ее качества и снижение себестоимости возможно только при наличии высокопродуктивных пород, типов, линий, семейств и кроссов сельскохозяйственных животных (Шейко, И.П. 2008).

Количественная оценка отличия сравниваемых форм по их аллельному составу важна для теоретических исследований в области теории эволюции, сохранения биоразнообразия в природных условиях, а также для селекции. Например, для объективного подбора скрещиваемых

родительских пород по степени их генетического несходства. В последние десятилетия были предложены новые параметры, характеризующие степень дивергенции – парного различия генетической структуры сравниваемых форм. Ряд показателей ориентирован на экспериментальные данные об их генетическом полиморфизме по одинаковому набору локусов, которые могут быть получены, например, методом электрофореза в геле (Жученко, А.А. 2006).

Целью работы является исследование полиморфных систем белка молока и определение генетического расстояния между популяциями коров голштинской и черно-пестрой пород.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пробы молока (n= 180) для исследований были взяты на племенной ферме ООО «Доксанком» ХО АТО Гагаузии, Комратского р-на, с. Томай (голландская порода, вывезенные из Голландии.), и на племенной ферме (n= 191) НПО «Селекция» г. Бельцы (черно-пестрая порода). Опыты проводились на базе лаборатории факультета «Зоотехнии и Биотехнологий» Государственного Аграрного Университета Молдовы. Полиморфные системы белка молока определяли электрофоретическим методом (по Смитису). Метод электрофореза позволяет определить генотипические частоты, которые затем легко можно пересчитать в частоты аллелей (Айала, Ф. 1988).

Генетическое сходство (I) и расстояние (D) между двумя популяциями определяли по формуле Неема, М. 1988:

$$I_k = \frac{\sum a_i b_i}{\sum a_i^2 \sum b_i^2}$$

$$D = - \ln I$$

где: $\sum a_i b_i$ – сумма произведения частот аллелей первой и второй популяции;

$\sum a_i^2 \sum b_i^2$ – произведение суммы квадратов частот аллелей каждой популяции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Альфа-S1-казеин ($\beta S1-CN$) является основной фракцией казеина и представляет собой смесь двух белков – главного и минорного компонентов, имеющих одинаковую первичную структуру, но отличающихся степенью фосфорелирования. Он имеет пять генетических вариантов (А, В, С, D и Е), которые отличаются содержанием отдельных аминокислот и их расположением в полипептидной цепи (Дымар, О.В. 2007).

В популяции голштинской породы коров в локусе $\beta S1-CN$ были выявлены три аллеля А, В, С. Наибольшую частоту имел вариант $\beta S1-CN^B$ (0,911), наименьшую – 0,041 $\beta S1-CN^A$ (табл. 1).

В популяции черно-пестрой породы коров в изучаемом локусе были выявлены 4 аллеля, с наибольшей частотой встречаемости – 0,480 для варианта $\beta S1-CN^B$. Низкую встречаемость имел аллель С – 0,0209.

Выраженный полиморфизм в изученных популяциях объясняется абсорбционными скрещиваниями между двумя породами, генотипы которых распределились следующим образом (табл. 2):

Из данных, приведенных в таблице, видно, что голштинская порода состояла в основном из генотипа ВВ – 81,1%, тогда как черно-пестрая порода коров состояла почти одинаково наполовину (44,5 и 43,46%) из генотипов ВВ и DD соответственно. Генетически разнообразней оказалась черно-пестрая популяция коров – 10 генотипов, против трёх у голштинской.

Бета-казеин ($\beta-CN$) у коров голштинской породы характеризовался наличием двух аллелей А и В. Наибольшая частота – 0,891 установлена для аллельного варианта $\beta-CN^A$, и 0,102 у $\beta-CN^B$ (табл. 3).

В популяции коров черно-пестрой породы также обнаружено 2 аллеля, но наибольшая частота – 0,545 установлена для $\beta-CN^B$.

Таблица 1. Генетическая структура локуса $\beta S1-CN$ популяций коров голштинской и черно-пестрой породы

Аллельные варианты локуса $\alpha S1-CN$	Голштинская порода	Черно-пестрая порода
$\alpha S1-CN^A$	0,041	0,034
$\alpha S1-CN^B$	0,911	0,480
$\alpha S1-CN^C$	0,052	0,0209
$\alpha S1-CN^D$	–	0,462

Таблица 2. Частота генотипов в локусе $\beta SI-CN$, %

Генотипы	Голштинская порода (n= 180)	Черно-пестрая порода (n= 191)
AA	–	0,52
BB	81,11	44,50
CC	–	0,52
DD	–	43,46
AB	8,33	4,19
AC	–	0,52
AD	–	2,09
BC	10,56	0,52
BD	–	0,52
CD	–	3,14

Генотипы в данном локусе распределились на три варианта AA, BB, AB. У коров голштинской породы наибольшее количество особей образовали генотип AA (81,6%), особи с генотипом AB составили 15,5% и 2,7% – генотип BB. В популяции коров черно-пестрой породы наблюдалось одинаковое количество животных – 37,6% с генотипом BB и AB (табл. 4).

Таблица 4. Частота генотипов в локусе $\beta-CN$, %

Генотипы	Голштинская порода (n= 180)	Черно-пестрая порода (n= 191)
AA	81,6	24,6
BB	2,7	37,6
AB	15,5	37,6

Таблица 3. Генетическая структура локуса $\beta-CN$ популяций коров голштинской и черно-пестрой породы

Аллельные варианты локуса $\beta-CN$	Голштинская порода	Черно-пестрая порода
$\beta-CN^A$	0,891	0,429
$\beta-CN^B$	0,102	0,545

Таблица 5. Генетическая структура локуса $\kappa-CN$ популяций коров голштинской и черно-пестрой породы

Аллельные варианты локуса $\kappa-CN$	Голштинская порода	Черно-пестрая порода
$\kappa-CN^A$	0,819	0,458
$\kappa-CN^B$	0,180	0,489

Каппа-казеин ($\kappa-CN$) в отличие от альфа и бетаказеинов, содержит только один фосфосериновый остаток, поэтому практически не присоединяет ионы калия, то есть не теряет растворимость в их присутствии (Дымар, О.В. 2007).

В анализируемых популяциях в локусе $\kappa-CN$ было выявлено два аллеля А и В (табл. 5). В популяции голштинской породы коров наибольшую встречаемость имел аллель А – 0,819, частота аллеля В составила 0,180.

В популяции черно-пестрой породы коров частоты $\kappa-CN^A$ и $\kappa-CN^B$ приблизительно одинаковы – 0,458 и 0,489 соответственно.

Наличие аллелей А и В в локусе $\kappa-CN$ в исследуемых популяциях распределило особей на три генотипа AA, BB, AB (табл. 6).

Как видно, преимущественным в популяции голштинской породы оказался генотип AA – 74,4%, тогда как в популяции коров черно-пестрой породы такого преимущества не наблюдалось, количество особей со всеми генотипами было практически одинаковое.

Бета-лактоглобулины ($\beta-LG$) содержат 8 антипараллельных пептидных последовательностей на основе бета-складчатой структуры, которые формируют цилиндр. Такой «цилиндр» содержит внутри лиганд-связывающий участок (Хабибрахманова, Я.А. 2009).

В результате исследований, в локусе $\beta-LG$, так же, как и в локусах $\kappa-CN$ и $\nu-CN$ было выявлено два аллеля А и В (табл. 7).

В популяции коров голштинской породы в локусе $\nu-LG$ наибольшую частоту имел аллель А (0,769), наименьшую – аллель В (0,230).

В популяции черно-пестрой породы аллель А имел наименьшее значение частоты – 0,473, а аллель В – наибольшее (0,526). Наличие в локусе $\beta-LG$ аллелей А и В привело к образованию трех генотипов (табл. 8).

Анализируя данные, видно, что в популяции коров голштинской породы наибольшее

Таблица 6. Частота генотипов в локусе κ -CN, %

Генотипы	Голштинская порода (n= 180)	Черно-пестрая порода (n= 191)
AA	74,4	32,9
BB	10,5	35,6
AB	15,1	31,4

Таблица 7. Генетическая структура локуса β -LG популяций коров голштинской и черно-пестрой породы

Аллельные варианты локуса β -LG	Голштинская порода	Черно-пестрая порода
β -LG ^A	0,769	0,473
β -LG ^B	0,230	0,526

количество особей обладало генотипом AA (67,2%). Значительно меньшее значение получено для особей с генотипами AB и BB (19,4% и 13,3% соответственно).

Таблица 8. Частота генотипов в локусе β -LG, %

Генотипы	Голштинская порода (n= 180)	Черно-пестрая порода (n= 191)
AA	67,2	34,03
BB	13,3	39,2
AB	19,4	26,7

Черно-пестрая порода характеризовалась наибольшим количеством особей с генотипом BB – 39,2%.

С помощью метода электрофореза проводятся сравнения популяций, пород, находящихся на разных уровнях эволюционной дивергенции, для многих различных организмов. Величины I и D используются в качестве меры генетической дифференциации популяций в процессе

видообразования (Айала, Ф. 1988). Полученные нами данные электрофореза по лактопротеинам позволили оценить долю структурных генов, которые идентичны в обеих популяциях (I) и оценить среднее число замен аллелей в каждом локусе, произошедших за время раздельного разведения двух пород (табл. 9).

Таблица 9. Генетическая дифференциация между популяциями коров голштинской и черно-пестрой породы

Системы	Гены	Голштинская порода		Черно-пестрая порода		$a_i \cdot b_i$	I	D
		a_i	a_i^2	b_i	b_i^2			
α S ₁ C _n	A	0,041	0,0017	0,034	0,0011	0,001394	–	–
	B	0,911	0,8300	0,480	0,2304	0,43728	–	–
	C	0,052	0,0027	0,021	0,0004	0,001092	–	–
	D	–	–	0,462	0,2134	0	–	–
β C _n	A	0,891	0,7938	0,429	0,1840	0,382239	–	–
	B	0,102	0,0104	0,545	0,2970	0,05559	–	–
κ C _n	A	0,819	0,6707	0,458	0,2097	0,375102	–	–
	B	0,180	0,0324	0,489	0,2391	0,08802	–	–
β L _g	A	0,769	0,5913	0,473	0,2237	0,363737	–	–
	B	0,230	0,0529	0,526	0,2766	0,12098	–	–
Сумма: Σ	–	–	Σ 2,9859	–	Σ 1,8754	$\Sigma (a_i \cdot b_i)$ 1,825434	–	–
	–	–	–	–	–	–	0,7714	0,2595

Молдавский тип черно-пестрого крупного рогатого скота создан путем скрещивания местных коров симментальской и красной степной пород с быками чёрно-пестрой и голштинской пород (Baltat cu Negru Moldovenesc, Inventii, MD–BOPI, 2009). Генетическое сходство в наших исследованиях между этими популяциями составило $I=0,7714$, что в принципе указывает на их общность по лактопротеинам, однако, между ними обнаруживается генетическое изменение ($D=0,2595$) в силу репродуктивного изолирующего механизма, а именно, разведение популяции черно-пестрой породы коров «в себе».

ВЫВОДЫ

В результате исследования в молоке коров голштинской и черно-пестрой породы в условиях

генетического равновесия обнаружен полиморфизм $\beta SI-CN$, $\kappa-CN$, $\beta-CN$ и $\beta-LG$. Ярко выраженный полиморфизм обнаружен в локусе $\beta SI-CN$. У голштинской породы коров установлены 3 аллеля $\beta SI-C^A$, $\beta SI-CN^B$, $\beta SI-CN^C$, у черно-пестрой породы 4 аллеля $\beta SI-C^A$, $\beta SI-CN^B$, $\beta SI-CN^C$, $\beta SI-C^D$. Несмотря на близкое родство этих популяций (общий предок – голштинские быки), между ними уже обнаруживается довольно значительная генетическая дифференциация $I=0,7714$, $D=0,2595$, т.е. в среднем в каждых 26 из 100 локусов произошли полные замены аллелей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. АЙАЛА, Ф., КАЙГЕР, Дж. (1988). Современная генетика. Т. 3. Москва: Мир. 335 с.
2. ДЫМАР, О.В., ЧАЕВСКИЙ, С.И. (2007). Производство казеина: основы теории и практики. Минск: РУП Ин-т мясо-молочной пром-сти. 70 с. ISBN 978-985-90132-5-6.
3. ЖУЧЕНКО, А.А. (2006). Генетика. Москва: Колос. 480 с. ISBN 5-9532-0069-2.
4. СУЛИМОВА, Г.Е., ЗИНЧЕНКО, В. В. (2011). Анализ полиморфизма ДНК с использованием метода полимеразной цепной реакции]: методическое пособие к практикуму “ДНК-маркеры для генетической паспортизации и улучшения геномов животных хозяйственно ценных видов”. Москва : Цифровичок. ISBN 978-5-91587-041-2.
5. ХАБИБРАХМАНОВА, Я.А. (2009). Полиморфизм генов молочных белков и гормонов крупного рогатого скота: дис. ... канд. биол. наук: 06.02.01. Москва. 123 с.
6. ШЕЙКО, И.П., ПОПКОВ, Н.А. (2008). Задачи селекционно-племенной работы по повышению генетического потенциала сельскохозяйственных животных. В: Белорусское сельское хозяйство, № 1 (69), с. 38-46.
7. ЯРЛЫКОВ, Н.Г. (2010). Влияние генотипа каппа-казеина на молочную продуктивность и сыропригодность молока коров ярославской породы: дис. ... канд. с-х наук: 06.02.07. Ярославль. 125 с.
8. SËITHIES, O. (1955). Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. In: Biochemical Journal, vol. 61(4), pp. 629-641. ISSN 0264-6021.
9. SMIRNOV, E., FOCȘA, V., CONSTANDOGLO, Alexandra et al. Tip de taurine (Bos Taurus L.) Bălțat cu Negru Moldovenesc: brevet de invenție nr. 3923 (13). Institutul Științifico-Practic de Biotehnologie în Zootehnie și Medicină Veterinară. Nr. depozit A2008 0252. Data depozit 03.10.2008. Publicat 30.06.2009. In: BOPI, 2009, nr. 6, pp. 17-18.

Data prezentării articolului: 08.03.2017

Data acceptării articolului: 07.04.2017