

// Принципы экологии. – 2012. – № 3. – С. 82–88.

4. Чернышенко, О.В. Стратегия ООН и индикаторы устойчивости экосистем для сохранения городского биоразнообразия Москвы / О.В. Чернышенко, В.А. Фролова, Л.П. Жданова // Лесной вестник. – 2021. – Т. 25, №3. – С. 93–102.

СЕКЦИЯ «АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ РАЗВЕДЕНИЯ, ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ»

УДК 636.082.12; 575.162

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА К-CASEIN И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА КОЗ АЛЬПИЙСКОЙ И НУБИЙСКОЙ ПОРОД

Беломестнов Константин Андреевич, аспирант кафедры частной зоотехнии, селекции и разведения животных ФГБОУ ВО Ставропольский государственный аграрный университет, belomestnov-k@mail.ru

Научный руководитель: Селионова Марина Ивановна, д.б.н., профессор ФГБОУ ВО Ставропольский государственный аграрный университет, m_selin@mail.ru

***Аннотация.** С целью внедрения в практику козоводства современных методов селекции для совершенствования продуктивных качеств молочных коз необходимы исследования вариантов генетического полиморфизма, ассоциированных с различными показателями продуктивности, такими как удой, содержание жира и белка в молоке. Исследование полиморфизма в гене каппа-казеина и его влияние на продуктивность проводилось на коз альпийской и нубийской пород. Установлено, что наиболее распространенным оказался гетерозиготный генотип ТС, который выявлялся с частотой от 0.60 до 0.63, гомозиготы с генотипом СС встречались с частотами 0.17 и 0.28. В молоке коз обеих пород наибольший уровень белка (3,41% и 4,31%) и жира (4,53 и 5,19%) был у коз-носителей СС-генотипа, и был достоверно выше, чем у носителей других генотипов. Превышение по содержанию сухих веществ в молоке этих животных определило меньший удой, который был в среднем ниже, чем у носителей других генотипов на 2,71% в альпийской и на 6,4% – нубийской породах.*

***Ключевые слова.** ген каппа-казеина, нубийская порода, SNP, качество молока, альпийская порода, генетический полиморфизм, козье молоко, популяция коз, молочная продуктивность, белок.*

Российское молочное козоводство является наиболее динамично развивающейся подотраслью животноводства. Для развития этого направления необходимо создание ферм промышленного типа, в которых будут внедрены

современные методы племенной работы, кормления, ухода за животными, а также интенсивные технологии производства козьего молока. Наряду с решением технологических вопросов, в селекционной работе важно применение современных методов отбора носителей наиболее ценных генотипов. Эту важную задачу решает генотипирование животных по генам, ассоциированным с признаками продуктивности. В России официально зарегистрированы и допущены к использованию на территории страны следующие породы молочных коз: зааненская, альпийская, мурсиана-гранадина и нубиан (нубийская) [1].

При всей популярности данных пород их генетические особенности остаются недостаточно изученными, особенно в популяциях отечественного разведения, что дает предпосылки к более детальным исследованиям их генетического потенциала и поиску достоверных ассоциаций генотипов с ценными продуктивными качествами. Более того, актуален вопрос становления производства отечественных сыров, и молоко коз можно рассматривать, как наиболее оптимальное сырье для небольших частных сыродельческих предприятий [2].

Одним из наиболее перспективных для изучения генетического полиморфизма с точки зрения производства сыров можно считать ген каппа-казеина, поскольку конечный выход сыра напрямую биотехнология, селекция, воспроизводство связан с содержанием казеина 4 разновидностей ($\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, β - и κ -казеина, кодируемых 4-мя тесно связанными аутосомными генами) в молоке и особенно с отношением казеина к общему белку [3, 4]. Кроме того, белок каппа-казеин играет основную роль в образовании и стабилизации молочных мицелл и определяет их размер и функции [3], что является решающим фактором в производстве сыров. Каппа-казеин отличается от других казеинов своей растворимостью в широком диапазоне концентраций ионов кальция, содержит гидрофильные области и отвечает за коагуляцию молока. Из 4 типов казеина именно κ -казеин влияет на производственные свойства молока, поскольку необходим для формирования и стабилизации мицелл при формировании сгустка молока в процессе створаживания. Считается, что каппа-казеин овец мономорфен [5], в то время как каппа-казеин крупного рогатого скота имеет 6 вариаций [6], наиболее распространены из них аллели А и В, при этом молоко коров, несущих аллель В содержит меньшую по диаметру и более однородную мицеллу, имеет повышенную концентрацию каппа-казеина, что приводит к увеличению выхода сыра. Исследования зарубежных ученых, проведенные на местных породах коз, разводимых в Италии, Франции и Испании показали, что различные типы казеина, в том числе и каппа-казеин коз так же, как у крупного рогатого скота, обладают высоким уровнем полиморфизма. При этом некоторые аллели в гене каппа-казеина связаны с повышенным его содержанием в молоке, а также с качественными показателями козьего молока (сниженным диаметром мицелл, более высоким процентным содержанием белка, жира, общего кальция и лучшими

параметрами для времени образования творога, твердости творога и выхода сыра), что характерно и для других типов казеина [6].

Изучение генетического полиморфизма каппа-казеина коз отечественных популяций весьма актуально, поскольку он связан с качественными показателями молока, его составом и технологическими характеристиками, что и определило актуальность настоящего исследования.

Целью исследования явилось изучение полиморфизм гена k-casein и его влияния на продуктивные качества в российских популяциях коз альпийской и нубийской пород.

Материал и методы. Было генотипировано 127 образцов ДНК коз альпийской породы (КФХ «Былинкино») и 48 образцов ДНК коз нубийской породы (КФХ «Ляшенко С.Н.»). Однонуклеотидную замену Т>С на амплифицированном участке гена каппа-казеина с использованием праймеров: прямой F1: 5'-TGTGCTGAGTAGGTATCCTAGTTATGG-3', и обратный R1: 5'-GCGTTGTCCTTTGATGTCTCCTTAG-3', выявляли рестриктазой VneI. Генотипирование проводили в генетической лаборатории ЦКП - «Сервисная лаборатория комплексного анализа химических соединений». Анализ компонентов молока коз проводился в ФИЦ животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста на базе ОНИС БиоТехЖ с использованием автоматического анализатора CombiFoss 7 DC («FOSS», Дания).

Частоту встречаемости и критерий соответствия χ^2 рассчитывали в программе Popgene (Population Genetic Analysis 1.32). Достоверность разницы по показателям продуктивности коз разных генотипов устанавливали с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты генотипирования позволили выявить полиморфизм в гене каппа-казеина в исследованных популяциях, представленный двумя аллелями – Т и С, которые определили три генотипа ТТ, ТС и СС, частота встречаемости которых представлена в таблице 1.

Таблица 1

Частота встречаемости генотипов и аллелей по замене к-CN/VneI

| Порода | Число животных | Генотип | | | Аллель | | χ^2 |
|------------|----------------|---------|------|------|--------|------|----------|
| | | ТТ | ТС | СС | Т | С | |
| Нубийская | 48 | 0.23 | 0.60 | 0.17 | 0.53 | 0.47 | 1.97 |
| Альпийская | 127 | 0.09 | 0.63 | 0.28 | 0.40 | 0.60 | 11.95 |

Установлено, что в изученных породах наиболее распространенным оказался гетерозиготный генотип ТС, который выявлялся с частотой от 0.60 до 0.63. Гомозиготы с генотипом СС встречались с частотами 0.17 и 0.28, а наиболее редким оказался гомозиготный генотип ТТ, распространение которого было на уровне 0.23 и 0.09. Расчет коэффициента χ^2 , показал отсутствие смещения равновесия распределения частот встречаемости генотипов в

популяции коз нубийской породы, в то время как в альпийской породе был достоверный недостаток гомозигот ТТ и избыток ТС и СС генотипов. Возможно, это связано длительной селекцией на улучшение сыродельческих качеств молока [2], поскольку известно, что аллель С по замене κ-CN/VneI ассоциирован с лучшими технологическими характеристиками. Однако имеются данные, что эта замена в гене каппа-казеина имеет отрицательную корреляцию с удоем [4].

Подтверждением этого являются результаты собственных исследований. Установлено, что в молоке коз обеих пород наибольший уровень белка установлен у коз-носителей СС-генотипа, который составил 3,41% и 4,31% и был достоверно выше, чем у носителей других генотипов. Также эти животные имели достоверно большее содержание в молоке жира – 4,53 и 5,19%. По-видимому, значительное превышение по содержанию сухих веществ в молоке этих животных определило их меньший удой, который был в среднем ниже, чем у носителей других генотипов на 2,71% в альпийской и на 6,4% – нубийской породах (таблица 2).

Таблица 2

Молочная продуктивность коз разных генотипов по гену каппа-казеина

| Генотип | Удой, кг | МДЖ, % | МДБ, % |
|---|--------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| <i>Альпийская порода</i> | | | |
| <i>κ-CN/VneI^{CC}</i> | 653,9±16,95 | 4,53 ^{**1,2} ±0,18 | 3,41 ^{***1,2} ±0,02 |
| <i>κ-CN/VneI^{CT}</i> | 657,3±15,38 | 3,91 ^{*3} ±0,09 | 3,10 ^{*3} ±0,05 |
| <i>κ-CN/VneI^{TT}</i> | 687,3 ^{***2,3} ±15,30 | 3,27±0,22 | 3,00±0,10 |
| Нубийская порода | | | |
| <i>κ-CN/VneI^{CC}</i> | 546,4±15,87 | 5,19 ^{**1,2} ±0,21 | 4,31 ^{**2} ±0,13 |
| <i>κ-CN/VneI^{CT}</i> | 568,6 ^{*1} ±16,21 | 4,78 ^{*3} ±0,12 | 3,58 ^{*3} ±0,04 |
| <i>κ-CN/VneI^{TT}</i> | 600,1 ^{***2,3} ±15,30 | 4,17±0,17 | 3,32±0,07 |
| Примечание: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 при сравнении генотипов ¹ κ-CN/VneI ^{CC} и κ-CN/VneI ^{CT} ; ² κ-CN/VneI ^{CC} и κ-CN/VneI ^{TT} ; ³ κ-CN/VneI ^{CT} и κ-CN/VneI ^{TT} | | | |

Таким образом, выявлено, что независимо от уровня продуктивности коз исследованных пород, концентрация белка и жира в молоке, что определяет его лучшие сыродельческие качества, была выше у носителей СС генотипа. Учитывая то обстоятельство, что небольшие фермерские хозяйства, такие как КФХ Ляшенко С.Н. и КФХ «Былинкино» специализируются на производстве сыров и именно эта деятельность приносит большой экономический эффект, увеличение численности животных данного генотипа является предпочтительной. Для этого необходимо проведение индивидуального подбора родительских пар с целью увеличения животных-носителей СС генотипа, частота которого на настоящий момент не превышает 0,28.

Библиографический список

1. Шичкин Г.И. Племенные ресурсы козоводства России / Шичкин Г.И., Сафина Г.Ф., Чернов В.В., Григорян Л.Н., Хмелевская Г.Н., Равичева А.В., Степанова Н.Г. // Ежегодник по племенной работе в овцеводстве и козоводстве

в хозяйствах Российской Федерации (2021 год). Москва: ФГБНУ ВНИИплем, Лесные Поляны. - 2022. - С. 298-323.

2. Ерохин А.И. Динамика поголовья коз и производства козьего молока и мяса в мире и в России / Ерохин А.И., Карасев Е.А., Ерохин С.А. // Овцы, козы, шерстяное дело. - 2020. - №4. - С. 22-25

3. Ramunno L. A. PstIPCR-RFLP at the goat CSN1S2 gene / L. Ramunno, E. Longobardi, G. Cosenza, P.Di Gregorio, A. Rando, P. Masina // Animals Genetics. - 1999. - V. 30. - P. 242-242.

4. Gutierrez A. Alterations of the physical characteristics of milk from transgenic mice producing bovine κ -casein / A. Gutierrez, E.A. Maga, H. Meade, C.F. Shoemaker, J.F. Medrano, G.B. Anderson, J.D. Murray // Journal Dairy Science. - 1996. - V. 79. - P. 791-799.

5. Kaminski S. Bovine κ -casein gene: molecular nature and application in dairy cattle breeding / S. Kaminski // J. Appl. Gen. - 1996. - V. 37. - P. 176-196.

6. Ramunno L. An allele associated with a non-detectable amount of α s2 casein in goat milk / L. Ramunno, E. Longobardi, M. Pappalardo, A. Rando, P.Di Gregorio // Animals Genetics. - 2000. - V. 32. - P. 19-26.

7. Ramunno L. Characterization of two new alleles at the goat CSN1S2 locus / L. Ramunno, G. Cosenza, M. Pappalardo, E. Longobardi, D. Gallo // Animals Genetics. - 2001. - V. 32. - P. 264-268.

УДК 636.082.2

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ АН1, FMO3, ARMC3 АЙРШИРСКОЙ ПОРОДЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Патутин Артем Алексеевич, аспирант кафедры биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ», a@patutin.ru

Аннотация: В данной статье описана разработка тест-системы для определения наследственных моногенных заболеваний АН1, FMO3, ARMC3 айрширской породы крупного рогатого скота на основе аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с дальнейшей идентификацией на капиллярном электрофорезе.

Ключевые слова: айрширская порода, АН1, FMO3, ARMC3, аллель - специфичная ПЦР.

Объект исследования: В настоящее время в мире активно продвигается программа по диагностике наследственных моногенных заболеваний крупного рогатого скота. На территории России также стали активно практиковать разработку тест систем на основе аллель - специфичной полимеразной цепной реакции [2].