


УДК 636:082:575.22

Характеристика генетичної структури плідників лебединської породи за генами бета- (CSN2) та капа-казеїну (CSN3)

Ладика В.І.¹ , Скляренко Ю.І.² , Павленко Ю.М.¹ 

¹ Сумський національний аграрний університет

² Інститут сільського господарства Північного Сходу НААН

 Скляренко Ю.І. E-mail: Sklyrenko9753@ukr.net



Ладика В.І., Скляренко Ю.І., Павленко Ю.М. Характеристика генетичної структури плідників лебединської породи за генами бета- (CSN2) та капа-казеїну (CSN3). Збірник наукових праць «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва», 2020. № 2. С. 88–96.

Ladyka V.I., Skljarenko Ju.I., Pavlenko Ju.M. Charakterystyka genetychnoi' struktury plidnykiv lebedyns'koi' porody za genamy beta- (CSN2) ta kapakazei'nu (CSN3). Zbimyk naukovyh prac' «Tehnologija vyrobnyctva i pererobky produkci'i' tvarynyctva», 2020. № 2. PP. 88–96.

Рукопис отримано: 16.09.2020р.

Прийнято: 02.10.2020р.

Затверджено до друку: 24.11.2020р.

doi: 10.33245/2310-9289-2020-158-2-88-96

Збереження генетичних ресурсів у тваринництві є необхідністю, яка визначена можливостями і реальністю різноманітності генофонду, наявного в країні, що зумовлює продуктивні та адаптивні можливості окремих порід великої рогатої худоби. Аборигенні породи є носіями унікальних генів і генних комплексів, відновити які у разі їх зникнення неможливо. Маркер-залежна селекція є одним із актуальних напрямів удосконалення великої рогатої худоби молочного напрямку продуктивності. Вона дає змогу вести добір і підбір батьківських форм на генному рівні. Актуальним питанням у селекції молочної худоби сьогодні є вивчення взаємозв'язку між спадковими чинниками, які обумовлюють типи білків у молоці. Генетичні варіанти бета-казеїну суттєво впливають на здоров'я людини, капа-казеїну – пов'язані з якістю молочної сировини та більшою придатністю молока для переробки та виробництва сиру.

Було досліджено наявну спермопродукцію бугаїв лебединської породи за генами бета- (CSN2) та капа-казеїну (CSN3). Матеріалом для дослідження була сперма плідників великої рогатої худоби лебединської породи. Визначення поліморфізму генів бета- та капа-казеїну проводили методом ПЛР-ПДРФ у лабораторії Інституту тваринництва НААН.

Аналіз генеалогічної структури довів, що 12 бугаїв-плідників належать до 8 ліній. З 12 плідників 5 – чистопородні лебединські, 7 – помісі зі швіцькою породою. Серед досліджених за комплексним генотипом (CSN2-(CSN3) один бугай мав бажаний генотип A2A2BB, ще по одному бугаю мали генотипи A2A2AB; A1A2BB; A1A2AB; A1A1AA. П'ять бугаїв мають генотип A1A2AA, а два бугаї – A1A1AB.

У плідників лебединської породи відмічено високу частоту алельного варіанта A2 бета-казеїну (46 %), та B капа-казеїну (33 %). Для створення мікропопуляцій з бажаним комплексним генотипом A2A2/BB рекомендовані бугаї-плідники, у яких частота алелів бета-казеїну A2 та капа-казеїну B задовольняють вимоги.

Ключові слова: бугай-плідник, бета-казеїн, капа-казеїн, генотип, алель, частота гаплотипів.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Наслідком широкого застосування генофонду кращих світових порід на маточному поголів'ї вітчизняних тварин стало те, що окремі місцеві породи виявилися на межі зникнення. Унаслідок цього відбувається безповоротна втрата цінних генів, скорочення генетичного різноманіття, яке є основою подальшого покращення породних якостей худоби.

Проведення роботи зі збереження генетичних ресурсів тварин є необхідним для запобігання цим проблемам [1, 2].

Одним із методів використання та збереження генофонду локальних, малочисельних та аборигенних порід тварин є створення банків довготривалого зберігання біологічного матеріалу [3].

Певною мірою селекційний прогрес у тваринництві залежить від використання плід-

ників з високим генетичним потенціалом. У селекції великої рогатої худоби та збереженні локальних порід відкриваються значні перспективи завдяки методу штучного осіменіння тварин глибокозамороженою спермою [4].

Великий інтерес для науковців становлять перспективи використання цієї сперми на поголів'ї вітчизняної худоби та оцінювання бугаїв, генетичний матеріал яких зберігається. Результати попередніх досліджень щодо оцінювання сперми бугаїв лебединської породи [5, 6] свідчать, що за тривалого зберігання (понад 25 років) вона придатна до використання. Отже, перед науковцями стоїть завдання оцінити плідників за молекулярними маркерами, що асоціюються з якістю молока.

У другій половині ХХ століття в популяційних і еволюційних дослідженнях, а також у селекції дедалі ширше стали використовувати дані про біохімічний поліморфізм білків. Пізніше прогрес у біотехнології та молекулярній генетиці дав змогу залучати відомості про мінливість безпосередньо молекул ДНК. Це дало змогу виявити різноманітні алельні варіанти, тобто поліморфізм генів і генотипів штучних і природних популяцій. Найповніше у молекулярно-генетичному аспекті вивчено велику рогату худобу. Більшість відомих маркерів продуктивності виявлено саме у ВРХ. Ці маркери пов'язані з показниками молочної продуктивності. Серед безлічі генів, що впливають на молочну продуктивність і якість молока, можна виділити групу таких, які роблять найбільший внесок у формування молочної продуктивності. До таких генетичних маркерів належать гени капа-казеїну (CSN3), β -лактоглобуліну (BLG), пролактину (PRL) та інші [7–10]. Отже, одним із способів удосконалення якості молока, підвищення вмісту молочного жиру та білка є відбір тварин на основі молекулярних маркерів. Науковці повідомляють, що ДНК поліморфні маркери дають змогу визначити окремі генотипи у багатьох локусах і забезпечити інформацію про параметри популяції, такі як частоти алелів і генів. Крім того, їх можна використовувати як інструмент для вдосконалення добору тварин [11]. Це обумовлює використання у програмах розвитку скотарства досліджень поліморфізму генів білка молока [12].

У світі поступово зростає частка молока, яке використовують для виготовлення сиру, тому його здатність до зсідання стає актуальною для молочної галузі. Науковці стверджують про наявність генетичних чинників, що їх обумовлюють. Це сприяє включенню цих показників у селекційні програми розведення молочної худоби [13].

Сьогодні розвиток тваринництва України потребує впровадження нових методів та підходів, які базуються на безпосередньому аналізі спадкової інформації на рівні окремих генів чи їх груп. В основі цих методів лежить використання поліморфізму ДНК для виявлення її специфічних послідовностей. ДНК-діагностика (генна діагностика) дає змогу, з одного боку, управляти генетичною структурою популяції, з іншого – проводити аналіз генотипів тварин на рівні генів, які асоційовані з господарсько корисними ознаками. Такі локуси отримали назву локуси кількісних ознак, або QTL (Quantitative Trait Loci's) [15, 16]. Так, за номенклатурою молочні білки кодуються: 8 α 1-CN (A, B, C, D, E, F, G, H), 4 α 2-CN (A, B, C, D), 12 β -CN (A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I), 11 κ -CN (A, B, C, E, F1, F2, G1, G2, H, I, J), 11 β -LG (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, W) і 3 α -LA (A, B, C) [14].

Упродовж останніх років бета-казеїн молока ретельно вивчається щодо його можливого впливу в деяких незаразних розладах. Науковці поділяють його на два типи – A1 і A2. Під час перетравлення молока A1 виробляється пептид бета-казоморфін-7 (BCM-7), який, як вважають, сприяє розвитку аутизму, шизофренії та інших неінфекційних захворювань. Екологічні дослідження, проведені у дев'ятнадцяти країнах (Великобританія, Фінляндія, Ірландія, Швеція, Данія, Франція, Німеччина, Ісландія, Норвегія, Австрія, Швейцарія, США, Японія, Ізраїль, Австралія, Нова Зеландія, Угорщина, Венесуела та Канада), виявили позитивний зв'язок між споживанням β -казеїну A1 та захворюваністю на цукровий діабет 1-го типу [17].

Частота алеля A2 у худоби різних порід суттєво різниться. Так, у гернзейської, швіцької, джерсейської, голштинської, айрширської та червоної данської вона становить 96–98 %, 66–70 %, 50–63 %, 44–53 %, 40–49 % та 23 % відповідно [17]. У Новій Зеландії наявність у молоці бета-казеїну A1, як небажаного варіанта, зумовила здійснення добору молочних корів, залежно від поліморфізму за цією ознакою. У програмах розведення як основний критерій було закладено використання бугаїв з генотипом A2A2. Нині популяція худоби цієї країни продукує молоко лише з варіантом A2 за бета-казеїном [18].

Гени молочного білка, особливо капа-казеїн (CSN3), є важливими чинниками якості та зсідання молока [18]. Капа-казеїн – єдина фракція основного білка молока, що містить амінокислоти цистеїн і метіонін, і становить приблизно 13 % казеїну молока. Виявлено одинадцять алелів, з яких найбільш поширеними є A, B і E [13]. Для успішної селекції за ознакою

сироприсадності використовують показник генотипу тварин за капа-казеїном. Найбільшою сироприсадністю вирізняється молоко тварин, що мають генотип ВВ (гомозиготні), меншою мірою – молоко корів, що мають генотипи АА і АВ. Молоко від корів з генотипом ВВ має достовірно вищий відсоток білка і здатність до утворення згустку [20, 21, 22].

Частота алелів капа-казеїну у худоби залежить від її породної належності. Варіант В переважає у симентальських тварин (69,6 %), тимчасом частота к-CN типу А є більшою у шведської червоно-рябої худоби (62,5 %) [23]. Корови джерсейської породи різнилися від корів червоної шведської та голштинів данської селекції високою частотою В-варіанта капа-казеїну та відсутністю алельного варіанта Е. У червоної шведської та голштинської порід варіант к-CN А був найбільш поширеним, тимчасом алель Е к-CN зустрічався частіше у червоної шведської, ніж у голштинської [24]. У тварин сірої української породи спостерігалася низька частота алеля В (0,337). Частоти генотипів АА та АВ становили 0,456 та 0,413 відповідно. Лише шість тварин виявилися носіями гомозиготного генотипу ВВ (0,13) [25].

Найбажанішим для виробництва молочних продуктів вважається комплексний генотип А2А2ВВ, що здатен забезпечити здоров'я людини і високі технологічні якості молока. Згідно з даними науковців, найбільша частота комплексного генотипу у корів голштинської породи характерна для А1А2АА – 36,4 %. Генотипи А1А2АВ та А2А2АА зустрічалися відповідно у 14,9 та 17,5 % поголів'я, а А1А2АВ – у 11,4 % [26]. Для червоної шведської комплексні генотипи β-к-CN суттєво впливали на співвідношення та концентрацію основних білків. Комплексний генотип А2А2/АА був найпоширенішим у тварин симентальської породи [23].

Мета дослідження – аналіз спермопродукції бугаїв лебединської породи за генами бета- (CSN2) та капа-казеїну (CSN3) для виявлення тварин з бажаним комплексним генотипом А2А2ВВ та вивчення можливостей щодо їх подальшого інтенсивного використання у базових генетичних стадах.

Матеріал і методи дослідження. Визначення поліморфізму гена бета- та капа-казеїну проводили методом ПЛР-ПДРФ в лабораторії Інституту тваринництва НААН. Для дослідження генів казеїнової фракції білка молока було використано біологічний матеріал (сперму) від плідників ВРХ (n=12) лебединської породи. Екстракцію ДНК проводили з використанням комерційного набору «ДНК-сорб В» (АмпліСенс, Росія).

Поліморфізм гена β-казеїну (CSN2) досліджували за використання алель-специфічної ПЛР (AS-PCR). Алельні варіанти локусу CSN2 обумовлені мутацією С/А (6 хромосома, 7 екзон), яка спричиняє заміну амінокислоти пролін (алель А2) на гістидин (алель А1).

Для AS-PCR використовували праймери [27]: GBhF 5'-CTTCCCTGGGCCCATCCA-3'; IGBpF 5'-CTTCCCTGGGCCCATCCC-3'; IGBR 5'-AGACTGGAGCAGAGGCAGAG-3'.

Розмір ампліфікаційного фрагмента становив 244 п.н.

Ампліфікацію досліджуваного локусу проводили за допомогою термоциклера «Amplify-4» (Биоком, Росія) за відповідною програмою: 1 цикл – денатурація 94 °С 5 хв; 5 циклів – денатурація 94 °С 30 с, випалювання 66 °С 30 с, елонгація 72 °С 30 с; 30 циклів – денатурація 94 °С 30 с, випалювання 64 °С 30 с, елонгація 72 °С 30 с; 1 цикл – фінальна елонгація 72 °С 5 хв. Об'єм реакційної суміші становив 10 μL, концентрація праймерів – 0,2 мкМ у кожному випадку.

Визначення генотипів тварин за геном капа-казеїну (локус CSN3) проводили з використанням ПЛР-ПДРФ.

Для ампліфікації локусу CSN3 (6 хромосома, 4 екзон) використовували праймери [28]: F: 5'-GAA ATC CCT ACC ATC AAT ACC-3' R: 5'-CCA TCT ACC TAG TTT AGA TG-3'.

Температура випалювання праймерів становила 54 °С. Довжина ампліфікаційного фрагмента – 273 п.н.

Для рестрикції CSN3 використовували ендонуклеазу HinfI (за інструкцією виробника, Thermo Scientific). У тварин з генотипом АА виявляють два сайти рестрикції та відповідно фрагменти довжиною 113, 91 і 49 п.н., генотип ВВ містить один сайт рестрикції та представлений фрагментами 224 і 49 п.н., тварини з гетерозиготним варіантом АВ мають фрагменти довжиною 224, 113, 91 і 49 п.н.

Електрофоретичне розділення фрагментів проводили з використанням агарозного гелю (3 %), візуалізацію проб – в ультрафіолетовому спектрі за використання етидіуму броміду (0,5 мкг/мл).

Статистичну обробку даних проводили на ПК за загальноприйнятою методикою із застосуванням програмного забезпечення MS Excel.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведене генетичне дослідження спермопродукції 12 бугаїв лебединської породи за генами бета- (CSN2) та капа-казеїну (CSN3) мало за мету вивчення генетичних особливостей кожного з бугаїв та врахування можливостей використання їх спермопродукції у замов-

них паруваннях. Аналіз генеалогічної структури довів, що 12 бугаїв-плідників належать до 8 ліній. З 12 плідників 5 – чистопородні лебединські, 7 – помісі зі швіцькою породою. Лінія Балкона 1799 представлена найбільшою кількістю бугаїв – 4 бугаї, з яких два чистопородні лебединські, а два помісні. Лінія Елеганта 148551 містить двох помісних бугаїв. Інші 6 ліній мають одного представника. Серед досліджених за комплексним генотипом (CSN2-(CSN3) один бугай мав бажаний генотип A2A2BB – Фінал 1008. П'ятьом плідникам притаманний генотип A1A2AA, а двом – A1A1AB. Решта тварин мали генотипи A2A2AB – Зоркий 9902; A1A2BB –

Зайчик 17000; A1A2AB – Паром 2075; A1A1AA – Мурат 79. Слід зазначити, що плідник Фінал 1008, який має бажаний комплексний генотип, є помісним за швіцем. Зоркий 9902 (A2A2 за бета-казеїном) – чистопородний лебединський бугай (табл.1).

За даними молекулярно-генетичного аналізу визначено частоту генотипів бугаїв лебединської породи за генами бета- (CSN2) та капа-казеїнів (CSN3) (рис. 1).

Отже, частота бажаного комплексного генотипу A2A2BB серед досліджених тварин становила 8,2 %; генотипу A2A2AB – 8,2 %; A1A2BB – 8,2 %.

Таблиця 1 – Характеристика бугаїв лебединської породи ТОВ «Сумський селекційний центр» за генами бета- (CSN2) та капа-казеїну (CSN3)

Бугай		Батько	Генотипи		Лінія	Умовна кровність*
Інд. №	кличка		CSN2	CSN3		
1008	Фінал	Балеро 5588	A2A2	BB	Елеганта 148551	Л40,6Ш59,4
79	Мурат		A1A1	AA		Л12,5Ш87,5
2075	Паром	Запад 9161	A1A2	AB	Мінуса 370	Л75Ш25
5002	Рогіз	Кобчик 9857	A1A2	AA	Бравого 1510	Л75Ш25
5296	Качур	Лідер 7595	A1A2	AA	Лака 964	Л100
9902	Зоркий	Лазер 5273	A2A2	AB	Макета 4307	Л100
7933	Дикий	Кумир 87/87	A1A1	AB	Балкона 1799	Л100
12273	Карий	Лютий 9823	A1A2	AA		Л100
17000	Зайчик	Каштан 91/14	A1A2	BB		Л75Ш25
17035	Чистий	Граніт 9954	A1A2	AA		Л62,5Ш37,5
17505	Залп	Барвінок 1519	A1A1	AB	Сюпріма 124652	Л75Ш25
102	Буйний	Упрямий 9914	A1A2	AA	Чуткого 4281	Л100

Примітка: * Л – лебединська порода; Ш – швіцька порода.

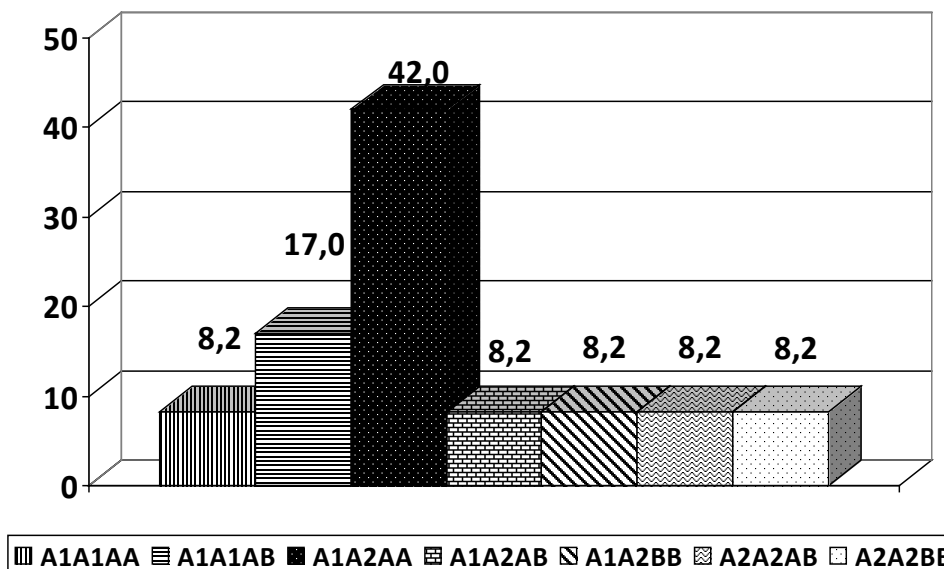


Рис. 1. Частота розподілу генотипів бугаїв лебединської породи за генами бета- (CSN2) та капа-казеїну (CSN3), %.

Науковий інтерес становить вивчення частоти окремих алелів генів бета- та капа-казеїну. Встановлено, що частота бажаного алеля бета-казеїну A2 у дослідних тварин лебединської породи становить 46 %, а капа-казеїну B – 33 %. З'ясовано, що у чистопородних лебединських бугаїв частота алельного варіанта A2 за бета-казеїном була вищою, порівнюючи з помісними за швіцькою породою тваринами. Водночас за частотою алеля B капа-казеїну помісні бугаї суттєво переважали чистопородних (рис. 2).

Отримані дані можна пояснити тим, що селекційна робота з лебединською породою проводилась у напрямі підвищення сиропридатності молока завдяки використанню бугаїв швіцької породи, оцінених за генотипом капа-казеїну. Бета-казеїн фігурує в показниках оцінки бугаїв лише впродовж останніх десяти років. За повідомленнями багатьох дослідників, саме локальним породам, до якої належить і лебединська, притаманний генотип A2A2 за бета-казеїном. Цим можна пояснити вищу частоту алельного варіанта A2 у лебединів.

У подальших дослідженнях проаналізовано всі комбінації між CSN2 CSN3 та ідентифіковано 4 гаплотипи CSN2-CSN3 (табл. 2).

Таблиця 2 – Частота гаплотипів за бета- та капа-казеїном

Гаплотип CSN2/CSN3	Частота, %
A1/A	39,5
A1/B	14,6
A2/A	27,1
A2/B	18,8

Частоти гаплотипів розраховували як середньозважене значення їх імовірностей. Серед оцінених бугаїв лебединської породи найчастіше зустрічався гаплотип A1/A (39,5 %). Гаплотипи, що несуть алель CSN2 A2 мали достатню частоту і становили майже 46 %, а ті, що несуть алель CSN3 B, – 33,4 %.

Результати досліджень комплексних генотипів бугаїв лебединської породи, сперма яких зберігається в банку генетичних ресурсів тварин Інституту розведення і генетики тварин ім. М.В. Зубця НААН, дають підставу стверджувати, що тваринам лебединської породи характерні високі частоти бажаних генотипів за бета- та капа-казеїном. Відомо, що лебединська порода створена за участі швіцької, яку і надалі періодично використовували для її покращення. Отже, доцільно було б порівняти результати досліджень науковців, що вивчали генотипи тварин швіцької породи, з отриманими нами результатами. Оскільки досліджень з виявлення комплексних генотипів у швіців у доступних джерелах не виявлено, порівняли наші дані з результатами оцінювання тварин голштинської породи. За результатами досліджень Vallas et al. [27] встановлено, що у тварин голштинської породи частіше (23 %) зустрічається комплексний генотип A1A2AA, тимчасом бажаний генотип A2A2BB спостерігався лише у 0,1 %, що значно нижче, порівнюючи з отриманими даними для лебединської породи.

За результатами оцінювання можливих гаплотипів за бета- та капа-казеїном чотирьох молочних порід S. Meier [30] встановлено, що тваринам швіцької породи характерна перевага гаплотипу A2B (56,9 %), симентальської поро-

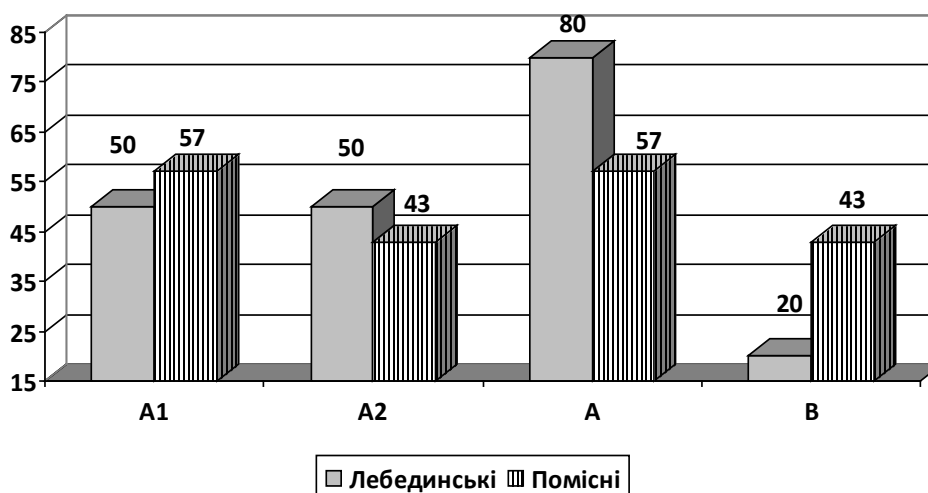


Рис. 2. Частота алелей генів бета- та капа-казеїну у бугаїв лебединської породи, %

ди – А2А (49,5 %), джерсейської – А2В (60,7 %), голштинської – А2А (53,3 %). Е. Яков [29] наводить дані, що молочній худобі в Швейцарії притаманна перевага наступних гаплотипів за досліджуваними ознаками: симентальській – А2А (28 %), голштинській – А2А (47 %), швіцькій – А2В (41 %). Ці результати не збігаються з отриманими нами. Імовірно, це пов'язано з відсутністю цілеспрямованої селекційної роботи з великою рогатою худобою за генотипами бета- та капа-казеїну в цій країні.

Висновки. 1. У плідників лебединської породи зафіксовано досить високу частоту алельного варіанта А2 локусу бета-казеїну (46 %), що дає змогу проводити подальшу селекцію зі створення мікропопуляцій з бажаним генотипом А2А2.

2. Виявлено дещо нижчу частоту алельного варіанта В локусу капа-казеїну (33 %), що також дає змогу проводити селекцію з покращення показників сиропридатності.

3. Встановлено, що більшою частотою алеля бета-казеїну А2 характеризувалися чистопородні бугаї лебединської породи, алеля капа-казеїну В – помісні зі швіцькою породою бугаї-плідники, що зумовлено особливістю селекційної роботи з лебединською породою.

4. Бажаним генотипом А2А2/ВВ характеризувався бугай Фінал 1008, якого рекомендовано для використання з метою створення мікропопуляцій худоби з унікальними продуктивними властивостями. З цією метою на маточному поголів'ї тварин лебединської породи можуть бути використані плідники Зоркий 9902 (А2А2/АВ), Зайчик 17000 (А1А2/ВВ) та Паром 2075 (А1А2/АВ). Інші бугаї можуть бути використані лише для покращення окремих характеристик (бета- або капа-казеїну).

5. Бугай Мурат 70 (А1А1/АА) не рекомендується для використання на маточному поголів'ї лебединської породи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондарчук Л. В. Качество спермопродукции быков-производителей бурых пород Сумской области. Генетика и разведение животных. 2014. Вып. 4. С. 54–55
2. Баранов А. В. Проблемы сохранения биоразнообразия в животноводстве. Достижения науки и техники АПК. 2011. Вып. 9. С. 21–22.
3. Яремчук І. М., Шаран М. М. Сучасні можливості аналізу якості сперми і розрахунку спермо доз. Біологія тварин. 2012. Т.14, № 1–2. С. 697–703.
4. Компьютерная технология оценки семени животных / Иолчиев Б. С. та ін. Достижения науки и техники АПК. 2011. Вып. 9. С. 46–48.
5. Ладика В. І., Склярєнко Ю. І., Павленко Ю. М. Оцінка якості сперми бугаїв-плідників у контексті збере-

ження популяції лебединської породи. НТБ Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок Інституту біології тварин. Львів, 2018. Вип. 19. № 2. С. 257–267.

6. Ладика В. І., Склярєнко Ю. І., Павленко Ю. М., Щербак О. В. Аналіз кріоконсервованої сперми плідників лебединської породи та оригінальної бурої худоби Німеччини. Розведення і генетика тварин. 2019. Вип. 58. С. 95–100.

7. Супрович Т. М., Мохначова Н. Б. Поліморфізм генів господарсько-корисних ознак сірої української породи великої рогатої худоби. Біологія тварин. 2017. Вип. 2. т. 19. № 1. С. 111–118.

8. Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk – Sixth Revision / Farrell H. M. et al. J. Dairy Sci. 2004. Vol. 87. pp.1641–1674.

9. Дроздов Е. В. Поліморфізм генів, пов'язаних з молочною продуктивністю крупного рогатого скота автореф. дис. ... к-та б. наук : спец. 03.02.07. Санкт-Петербург – Пушкин, 2013 г. 24 с.

10. Хабибрахманов Я. А. Поліморфізм генів молочних белків і гормонів крупного рогатого скота: автореф. дис. ... к-та б. наук : спец. 06.02.01. Всероссийский научно – исследовательский институт племенного дела. Лесные Поляны Московской области, 2009 г. 22с.

11. Association of HindIII-polymorphism in kappa-casein gene with milk, fat and protein yield in holstein cattle / Miluchová M. et al. Acta Biochimica Polonica, 2018. Vol. 65. No.3. P. 403–407. Doi: https://doi.org/10.18388/abp.2017_2313

12. Potential influence of κ-casein and β-lactoglobulin genes in genetic association studies of milk quality traits / Zepeda-Batista J.L. et al. Asian-Australas J Anim Sci. 2017. Vol. 30. No. 12. P. 1684–1688. Doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0481>

13. Short communication: Effects of β-lactoglobulin, stearoyl-coenzyme A desaturase 1, and sterol regulatory element binding protein gene allelic variants on milk production, composition, acidity, and coagulation properties of Brown Swiss cows / Cecchinato A. et al. J. Dairy Sci. 2011. Vol. 95. P. 450–454. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4581>

14. Копилов К.В. Поліморфізм генів, асоційованих з господарсько корисними ознаками (QTL) у різних порід великої рогатої худоби. Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. 2010. Т. 8. № 2. С. 223–228.

15. Anggraenia A., Sumantrib C., Farajallahc A., Andreasd E. Kappa-Casein Genotypic Frequencies in Holstein-Friesian Dairy. Media Peternakan. 2010. Vol. 33. No. 2. P. 61–67.

16. Caroli A. M., Chessa S., Erhardt G. J. 'Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition' Journal of Dairy Science. 2009. Vol 92. P. 5335–5352. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2461>

17. Parashar A., Saini R. K. A1 milk and its controversy-a review. International Journal of Bioassays. 2015. Vol. 4. № 12. P. 4611-4619.

18. Evaluation of bovine beta casein polymorphism in two dairy farms located in northern Italy / Massella E. et al. Italian Journal of Food Safety. 2017. Vol. 6. P. 131–133.

19. Joint effects of CSN3 and LGB genes on milk quality and coagulation properties in Czech Fleckvieh / A. Matějček

et al. Czech J. Anim. Sci. 2008 Vol. 53 (6). P. 246–252.

20. Ганган В. И. Комплексная оценка молока коров симментальской породы различных генотипов: автореф. дис. ... к-та с.-х. наук : спец. 06.02.10. Ставропольская государственная сельскохозяйственная академия. Ставрополье 2013 г., 22 с.

21. Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis / Nicolò Amalfitano et al. J. Dairy Sci. 2018. Vol. 102. P. 2903–2917. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15524>

22. Mustafa L. Y., Riyadh H. Effect of mutation site of k-casein gene on protein quantity, composition, and other milk constituents in Holstein cows. J. Pharm. Sci. 2019. Vol. 11(2). P. 398–401.

23. Comparison of milk protein composition and rennet coagulation properties in native Swedish dairy cow breeds and high-yielding Swedish Red cows / Poulsen N. A. et al. J. Dairy Sci. 2017. Vol. 100. P. 8722–8734. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12920>.

24. Effects of breed and casein genetic variants on protein profile in milk from Swedish Red, Danish Holstein, and Danish Jersey cows / Gustavsson F. Et al. J. Dairy Sci. 2013. Vol. 97. P. 3866–3877. Doi: <http://doi.org/10.3168/jds.2013-7312>

25. Супрович Т. М., Мохначова Н. Б. Поліморфізм генів господарсько-корисних ознак сірої української породи великої рогатої худоби. Біологія тварин. 2017. Т. 19. № 1. С. 111–118.

26. Molee A., Poompramun C., Mernkrathoke P. Effect of casein genes - beta-LGB, DGAT1, GH, and LHR - on milk production and milk composition traits in crossbred Holsteins. Genetics and Molecular Research. 2015. Vol. 14 (1). P. 2561–2571.

27. Composite β -k-casein genotypes and their effect on composition and coagulation of milk from Estonian Holstein cows / Vallas M. et al. J. Dairy Sci. 2012. Vol. 95. p. 6760–6769. Doi: <http://doi.org/10.3168/jds.2012-5495>

28. Status of β -casein (CSN2) Polymorphism in Frieswal (HF X Sahiwal Crossbred) Cattle / Ganguly I. et al. International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research. 2013. Vol. 4. № 3. P. 249–256.

29. Копилов К.В., Бірюкова О.Д. Характеристика тварин української чорно – рябої молочної породи за поліморфізмом генів (qtl). Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького. 2010. Т. 12. № 2(3). С. 98–102.

30. Meier S., Korkuč P., Arends D., Gudrun A. Brockmann DNA Sequence Variants and Protein Haplotypes of Casein Genes in German Black Pied Cattle (DSN). Livestock Genomics. 2019. Vol. 10. Doi: <http://doi.org/10.3389/fgene.2019.01129>

31. Jakob E. Ist A2-Milch wirklich gesünder? Gränichen, 2018. 21 p.

REFERENCES

1. Bondarchuk, L.V. (2014). Kachestvo spermoproduktsii byikov-proizvoditeley buryih porod Sumskey oblasti [The quality of sperm production of brown bulls of brown breeds of Sumy region]. Genetika i razvedenie zhivotnykh [Genetics and animal breeding]. Issue 4, pp. 54–55.

2. Baranov, A.V. (2011). Problemyi sohraneniya bioraznoobraziya v zhivotnovodstve [Problems of biodiversity conservation in livestock]. Dostizheniya nauki i tehniki APK [Achievements of science and technology of agriculture]. Issue 9, pp. 21–22.

3. Yaremchuk, I. M. (2012). Suchasni mozhlivosti analizy yakosti spermi i rozrahunku spermodoz [Modern ability to analyze the quality of sperm and the calculation of spermodosis]. BIologiya tvarin [Animal biology]. Vol. 14, pp. 697–703.

4. Iolchiev, B.S., Bagirov, V.A., Klenovickij, P.M., Kononov, V.P., Nasibov, Sh.N., Voevodin, V.A. (2011). Kompyuternaya tehnologiya otsenki semeni zhivotnykh [Computer technology assessment of animal seed]. Dostizheniya nauki i tehniki APK [Achievements of science and technology of agriculture]. Issue 9, pp. 46–48.

5. Ladyka, V. I., Skliarenko, Yu. I., Pavlenko, Yu. M. (2018). Otsinka yakosti spermy buhaiv-plidnykh u konteksti zberezheniya populatsii lebedynskoy porody [Assessment of sperm quality of breeding bulls in the context of conservation of the Lebedyn breed]. NTB Derzhavnoho naukovodoslidnoho kontrolnoho instytutu veterynarykh preparativ ta kormovykh dobavok Instytutu biolohii tvaryn [NTB of the State Research Control Institute of Veterinary Drugs and Feed Additives of the Institute of Animal Biology]. Issue 19, no. 2, pp. 257–267.

6. Ladyka, V. I., Skliarenko, Yu. I., Pavlenko, Yu. M., Shcherbak O. V. (2019). Analiz kriokonservovanoi spermy plidnykh lebedynskoy porody ta oryhnalnoi buroi khudoby Nimechchyny [Analysis of cryopreserved sperm of breeders of Lebedyn breed and original brown cattle of Germany]. Rozvedennia i henetyka tvaryn [Breeding and genetics of animals]. Issue 58. pp. 95–100.

7. Suprovych, T. M. Mokhnachova, N. B. (2017). Polimorfizm heniv hospodarsko-korysnykh oznak siroi ukrainiskoy porody velykoi rohatoi khudoby [Polymorphism of genes of economic and useful traits of the gray Ukrainian breed of cattle]. Biolohiia tvaryn [Animal biology]. Issue 2, Vol. 19, pp. 111–118.

8. Farrell, H. M., Jimenez-Flores, Jr. R., Bleck, G. T., Brown, E. M., Butler, J. E. Creamer, L. K., Hicks, C. L., Hollar, C. M., Ng-Kwai-Hang, K. F., Swaisgood, H. E. (2004). Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk – Sixth Revision. J. Dairy Sci. Vol. 87, pp.1641–1674.

9. Drozdov, E. V. (2013). Polimorfizm genov, svyazannykh s molochnoy produktivnost'yu krupnogo rogatogo skota. Avtoref. dis. k-ta b. nauk [Polymorphism of genes associated with milk production in cattle. Af. biol. sci.]. Petersburg - Pushkin, 24 p.

10. Habibrahmanov, Y. A. (2009). Polimorfizm genov molochnykh belkov i gormonov krupnogo rogatogo skota. Avtoref. dis. k-ta b. nauk [Polymorphism of genes of milk proteins and hormones of cattle. Af. biol. sci.]. Lesnye Polyany Moskovskoy oblasti [Forest Glades of the Moscow Region]. 22 p.

11. Miluchová, M., Gábor, M., Candrák, J., Trakovická, A., Candráková, K. (2018) Association of HindIII-polymorphism in kappa-casein gene with milk, fat and protein yield in holstein cattle. Acta Biochimica Polonica. Vol. 65, no. 3, pp. 403–407.

12. Zepeda-Batista, J.L., Saavedra-Jiménez, L.A., Agustín Ruiz-Flores, Núñez-Domínguez R., Rodolfo Ramírez-Valverde, L.A. (2017). Potential influence of κ -casein and β -lactoglobulin genes in genetic association studies of milk quality traits. *Asian-Australas J Anim Sci*. Vol. 30, no. 12, pp. 1684–1688.
13. Cecchinato, A., Ribeca, C. Maurmayr, A., Penasa, M. De Marchi, M., Macciotta N., Mele, M., Secchiari, P., Pagnacco, G., Bittante, G. (2011). Short communication: Effects of β -lactoglobulin, stearoyl-coenzyme A desaturase 1, and sterol regulatory element binding protein gene allelic variants on milk production, composition, acidity, and coagulation properties of Brown Swiss cows, *J. Dairy Sci*. Vol. 95, pp. 450–454.
14. Kopylov, K.V. (2010), Polimorfizm heniv, asotsiiovanykh z hospodarsko korysnymy oznakamy (QTL) u riznykh porid velykoi rohatoi khudoby [Polymorphism of genes associated with economically useful traits (QTL) in different breeds of cattle] *Visnyk Ukrainiskoho tovarystva henetykiv i selektsioneriv* [Bulletin of the Ukrainian Society of Geneticists and Breeders]. Vol. 8, no. 2, pp. 223–228.
15. Anggraenia, A., Sumantrib, C., Farajallah, A., Andreas, E. (2010). Kappa-Casein Genotypic Frequencies in Holstein-Friesian Dairy. *Media Peternakan*. Vol. 33, no. 2, pp. 61–67.
16. Caroli, A. M., Chessa, S., Erhardt, G. J. (2009). Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*. Vol. 92, pp. 5335–5352.
17. Parashar, A., Saini, R. K. (2015). A1 milk and its controversy-a review, *International Journal of Bioassays*. Vol. 4, no. 12, pp. 4611–4619.
18. Massella, E., Piva, S. Giacometti, F. Liuzzo, G., Zambrini, A. V., Serrano A. (2017). Evaluation of bovine beta casein polymorphism in two dairy farms located in northern Italy. *Italian Journal of Food Safety*. Vol. 6, pp. 131–133.
19. Matějček, A., Matějčková, J., Štípková, M., Hanuš, O., Genčurová, V., Kyseřová, J., Němcová, E., Kott, T., Šefrová, J., Krejčová, M., Melčová, S., Hölzelová, I., Bouška, J., Frelich J., (2008). Joint effects of CSN3 and LGB genes on milk quality and coagulation properties in Czech Fleckvieh. *Czech J. Anim. Sci*. Vol. 53(6), pp. 246–252.
20. Gangan, V. I. (2013). Kompleksnaya ocenka moloka korov simmental'skoj porody razlichnyh genotipov Avtoref. dis. k-ta s.h. nauk [Comprehensive assessment of milk of Simmental cows of various genotypes. *Af. Agricul. sci.*] Stavropol, 23 p.
21. Amalfitano, N., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Malacarne, M. Summer, A., Bittante, G. (2018). Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis. *J. Dairy Sci*. Vol. 102, pp. 2903–2917.
22. Lateef Yaser, M., Hamad Senkal, R. (2019). Effect of mutation site of k-casein gene on protein quantity, composition, and other milk constituents in Holstein cows Mustafa Lateef Yaser et al. *J. Pharm. Sci. & Res*. Vol. 11(2), pp. 398–401.
23. Poulsen, N., Glantz, M., Rosengaard, A., Paulsson, M., Larsen, L. (2017). Comparison of milk protein composition and rennet coagulation properties in native Swedish dairy cow breeds and high-yielding Swedish Red cows. *J. Dairy Sci*. Vol. 100, pp. 8722–8734.
24. Gustavsson, F., Buitenhuis, A. J., Johansson, M., Bertelsen, H. P., Glantz, M., Poulsen, N. A. (2013). Effects of breed and casein genetic variants on protein profile in milk from Swedish Red, Danish Holstein, and Danish Jersey cows. *J. Dairy Sci*. Vol. 97, pp. 3866–3877.
25. Suprovych, T. M., Mokhnachova, N. B. (2017). Polimorfizm heniv hospodarsko-korysnikh oznak siroi ukrainiskoi porody velykoi rohatoi khudoby [Polymorphism of genes of economic and useful traits of the gray Ukrainian breed of cattle]. *Biologiya tvaryn* [Animal biology]. Vol. 19, no. 1, pp. 111–118.
26. Molec, A., Poompramun, C., Mernkrathoke, P. (2015). Effect of casein genes - beta-LGB, DGAT1, GH, and LHR - on milk production and milk composition traits in crossbred Holsteins. *Genetics and Molecular Research*. Vol. 14 (1), pp. 2561–2571.
27. Vallas, M., Kaart, T., Värv, S., Jõudu, I., Viinalass, H., Pärna, E. (2012). Composite β - κ -casein genotypes and their effect on composition and coagulation of milk from Estonian Holstein cows. *J. Dairy Sci*. Vol. 95, pp. 6760–6769.
28. Ganguly, I., Sushil, K., Gaur, G., Singh, U., Arun, K., Sunil, K., Sandeep, M., Sharma, A. (2013). Status of β -casein (CSN2) Polymorphism in Frieswal (HF X Sahiwal Crossbred) Cattle. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*. Vol. 4, no. 3, pp. 249–256.
29. Kopylov K.V., Biriukova O.D. (2010) Kharakterystyka tvaryn ukrainiskoi chorno – riaboi molochnoi porody za polimorfizmom heniv (qtl) [Characteristics of animals of Ukrainian black - spotted dairy breed by gene polymorphism (qtl)]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnologii im. Gzhytskoho* [Scientific Bulletin of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology]. Vol. 12, no. 2(3), pp. 98–102.
30. Meier, S., Korcuć, P., Arends, D., Gudrun, A. (2019). Brockmann DNA Sequence Variants and Protein Haplotypes of Casein Genes in German Black Pied Cattle (DSN). *Livestock Genomics*. Vol. 10.
31. Jakob, E. (2018). Ist A2-Milch wirklich gesünder? *Gränichen*. 21 p.

Характеристика генетической структуры производителей лебединской породы по генам бета- (CSN2) и каппа-казеина (CSN3)

Ладыка В.И., Скляренко Ю.И., Павленко Ю. Н.

Сохранение генетических ресурсов в животноводстве является необходимостью, которая определена возможностями и реальностью разнообразия генофонда, имеющегося в стране, что обуславливает продуктивные и адаптивные возможности отдельных пород крупного рогатого скота. Аборигенные породы являются носителями уникальных генов и генных комплексов, восстановить которые при их исчезновении невозможно. Маркер-зависимая селекция является одним из актуальных направлений совершенствования крупного рогатого скота молочного направления продуктивности. Она позволяет вести отбор и подбор родительских форм на генном уровне. Актуальным вопросом в селекции молочного скота сегодня является изучение взаимосвязи между наследственными факторами, которые обуславливают типы белков в молоке. Генетические варианты бета-казеина существенно влияют на здоровье человека, каппа-казеина – связаны с качеством молочного сырья и большей пригодностью молока для переработки и производства сыра.

Было изучено имеющуюся спермопродукцию быков лебединской породы по генам бета- (CSN2) и каппа-казеина (CSN3). Материалом для исследований была сперма производителей крупного рогатого скота лебединской породы. Определение полиморфизма генов бета- и каппа-казеина проводили методом ПЦР-ПДРФ в лаборатории Института животноводства НААН.

Анализ генеалогической структуры доказал, что 12 быков-производителей отнесены к 8 линиям. Из 12 производителей 5 – чистопородные лебединские, 7 – помеси с швицкой породой. Среди исследованных по комплексному генотипу (CSN2- (CSN3) один бык имел желаемый генотип A2A2BB, еще по одному быку выявлены генотипы A2A2AB; A1A2BB; A1A2AB; A1A1AA. Пять быков имеют генотип A1A2AA, а два быка – A1A1AB.

У быков лебединской породы отмечена высокая частота аллелей A2 бета-казеина (46 %) и B каппа-казеина (33 %). Для создания микропопуляций с желаемым комплексным генотипом A2A2 / BB рекомендованы быки-производители, у которых частота аллелей бета-казеина A2 и каппа-казеина B удовлетворяют требованиям.

Ключевые слова: бык-производитель, бета-казеин, каппа-казеин, генотип, аллель, частота гаплотипов.

Characteristics of the genetic structure of bulls of lebedinian breed by Beta (CSN2) - and Capa Casein genes (CSN3)

Ladyka V., Sklyarenko Y., Pavlenko Y.

The Conservation of genetic resources in animal husbandry is a necessity arising from the possibilities and reality of the diversity of the gene pool available in the country, which determines the productive and adaptive capabilities of individual breeds of cattle. Aboriginal

breeds are carriers of unique genes and gene complexes, which cannot be restored if they disappear. Marker-assisted selection is one of the current areas of improvement of dairy cattle productivity. It allows the selection of parental forms at the genetic level. An important issue in the selection of dairy cattle today is the study of the relationship between hereditary factors that determine the types of proteins in milk. Genetic variants of beta-casein significantly affect on human health, kappa-casein is associated with the quality of raw milk and cheese making properties.

The aim of the research was to study the available sperm production of Lebedinian bulls by beta- (CSN2) and kappa-casein (CSN3) genes. The material for research was the sperm of bulls of Lebedinian breed cattle. Determination of beta- and kappa-casein gene polymorphism was performed by PCR-RFLP method in the laboratory of the Institute of Animal Husbandry of NAAS.

Analysis of the genealogical structure showed that 12 bulls-producers belong to 8 lines. Of the 12 bulls, 5 are purebred Lebedinian, 7 are crossbreeds with the swiss breed. Among those studied for the complex genotype (CSN2- (CSN3), one bull had the desired genotype A2A2BB, another bulls had genotypes A2A2AB; A1A2BB; A1A2AB; A1A1AA. Five bulls have the A1A2AA genotype and two bulls have the A1A1AB genotype.

The high frequency of the A2 allele of beta-casein (46%) and the B allele of kappa-casein (33%) was observed in sires of Lebedinian breed. To create micropopulations with the desired complex A2A2 / BB genotype, sires are recommended in which the frequency of alleles of beta-casein A2 and kappa-casein B satisfies the requirements.

Key words: sire, beta-casein, kappa-casein, genotype, allele, frequency, haploid.



Copyright: Ладика В.І. Склярєнко Ю.І. Павленко Ю.М. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Ладика В.І.
Склярєнко Ю.І.
Павленко Ю.М.

ID: <https://orcid.org/0000-0001-6748-7616>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-6579-2382>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-4128-122X>