

УДК 636.082.2.; 575.42

**КЛАСТЕР ГЕНІВ БІЛКІВ МОЛОКА ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ  
ХУДОБИ**

*Ю. В. Гузєєв*

ТОВ «Голосіїво» Броварського р-ну Київської обл.

*У статті викладено інтегровані показники альбумінів молока великої рогатої худоби різних генотипів капа-казеїнів. ДНК діагностика дозволяє оцінювати поліморфізм гена капа-казеїну на різних стадіях онтогенезу, незалежно від статі та віку тварин, та вводити в селекційний процес тварин з бажаними генотипами по CSN3.*

**Ключові слова:** ГЕНОФОНД, ПОПУЛЯЦІЯ, АГРОЕКОСИСТЕМИ, ДНК-ТЕСТУВАННЯ, ВЕЛИКА РОГАТА ХУДОБА, КЛАСТЕР ГЕНІВ, МОЛОКО, КАПА-КАЗЕЇН, СИРОВАРІННЯ.

Внаслідок інтенсивної діяльності людства в природі виникли незворотні зміни в екосистемах, назріла конфліктна ситуація між природою, яка направляє всі свої сили на забезпечення в екосистемах максимальної життєдіяльності, та людством, яке всіма зусиллями хоче отримати від природи максимум прибутків, нам не слід забувати, що в природі немає нічого збиткового. Тисячоліттями апробовані природою тварини починають зникати, виникає розбалансування екосистем, біомаси починають гинути, не виключено, що це явище призведе людство до загибелі. На жаль, цей процес — не підвладний контролю, набув прискорених темпів, що змусило міжнародні організації з 1976 року розробити спеціальну програму ООН: «Збереження генетичних ресурсів тварин», в якій сформульовані рекомендації щодо вивчення та збереження генофонду тварин.[1–4]

Тому назріла гостра проблема в збереженні зникаючих порід сільськогосподарських тварин та створенні генофондних ферм, резервацій та колекціонаріїв.

У більшості розвинутих країн світу стає актуальною проблема збереження біологічного різноманіття в агроекосистемах, генетичної консервації місцевих порід сільськогосподарських тварин.

Тварини локальних порід, як правило, характеризуються міцною конституцією, підвищеною стійкістю до хвороб, пристосованістю до екстремальних умов існування та експлуатації, довголіттям використання, високою якістю продукції.

Особливо велике занепокоєння викликає збереження генофонду великої рогатої худоби в силу біологічних особливостей цього виду, оскільки поголів'я місцевої худоби значно скоротилося темпи його генетичного поліпшення та вдосконалення традиційними методами селекції незначні, а термін господарського використання тривалий, втрачені при фенотиповій селекції гени можуть бути втрачені назавжди [4–6].

Відомо також, що одностороння увага до будь-якої однієї ознаки призводить до швидкого досягнення селекційного плато. Результативність схрещування тварин, спеціалізованих за одним напрямом продуктивності, часто не перевищує ефективність

гетеро-екологічних підборів при внутрішньопородному удосконаленні, тому періодично звертаються до локальних порід.

Селекція сільськогосподарських тварин є складовою частиною складної системи племінної роботи. При оцінці тварин молочних порід велике значення має не тільки високий рівень молочної продуктивності, але й якісні показники молока. Селекція на жирномолочність — це норма вітчизняного скотарства. Але селекції на вміст білку в молоці не приділялось достатньої уваги, хоча кількість білку в молоці та його структура має велику економічну значимість для переробної промисловості, оскільки в прямій залежності від цього змінюються витрати сировини, часу та енергоносіїв на виробництво молочних продуктів, крім цього, цей показник в значній мірі визначає і якість готової продукції [3].

Попередні дослідження, проведені вченими в пошуках маркерних генів, пов'язаних з білковомолочністю, свідчать про взаємозв'язок білку в молоці з алельним станом гена капа-казеїну (1–3). Молоко тварин з генотипом CSN3<sup>BB</sup> характеризується зменшеним розміром міцел, більш високим вмістом білку та кращими властивостями для сироваріння (коротший час коагуляції; коагулянт щільнішої консистенції). В зв'язку з цим великий інтерес представляє метод ДНК-діагностики, який дозволяє оцінювати поліморфізм гена капа-казеїну на рівні нуклеотидної послідовності, алельні варіанти, які визначаються на різних стадіях онтогенезу, незалежно від статі та віку тварин [7–14].

#### **Матеріали і методи**

У 2007–2008 рр. під керівництвом доктора сільськогосподарських наук, професора Вінничука Д. Т. та за підтримки заступника Міністра аграрної політики України Вербицького П. І. здійснено експедиційне обстеження генофонду порід великої рогатої худоби та буйволів, які розводяться в Україні. Під час експедиції були відібрані біопроби (тканина з вушної раковини) для досліджень на сателітні ДНК та ДНК-діагностики алелофонду великої рогатої худоби по гену CSN3 білків молока. Для досягнення цієї мети був створений банк ДНК-біопроб великої рогатої худоби та проведено молекулярне дослідження поліморфізму гена капа-казеїну тварин методом ПЦР-ПДРФ-аналізу по методиці, розробленій в лабораторії молекулярної генетики і цитогенетики тварин Державного Національного Університету Всеросійського Інституту Тваринництва Російської сільськогосподарської Академії (Гладирь О. О. та ін., 2001 р.). Наші дослідження проведені також в цій лабораторії.

У молоці казеїн перебуває у вигляді специфічних частинок або міцел (від лат. *Micelle* — крихітка, крупинка), які є складними комплексами фракції казеїну з колоїдним фосфатом кальцію. Казеїн — комплекс чотирьох фракцій: AS1, AS2, B, K. Всі його фракції є фосфопротеїдами, тобто містять залишки фосфорної кислоти, приєднані до амінокислоти серину моноєфірним зв'язком [6, 7].

Ген капа-казеїну (CSN3) має розмір 13 т.п.о. і складається з 5 екзонів загальною довжиною 850 п.о. та 4 інтронів. Як і інші білки молока CSN3 зустрічається в декількох поліморфних варіантах, виявлених шляхом електрофоретичного розділення казеїнової фракції в поліакриламідному гелі. Причинами білкового поліморфізму виявились поодинокі амінокислотні заміни (рис. 1), які призводять до змін електрофоретичної рухливості.

Дослідження нуклеотидної і амінокислотної послідовності капа-казеїну буйволів показали, що буйволи мають проміжний варіант капа-казеїну, який характеризується наявністю амінокислотного залишку Ala, в позиції 148 (відповідає

варіанту В капа-казеїну), і амінокислотного залишку Thr в позиції 136 (відповідає варіанту В капа-казеїну). В зв'язку з цим, у буйволів при діагностуванні капа-казеїну за позицією 148 (ця позиція традиційно використовується в аналізах) виявляється варіант В. Наявність в цій позиції амінокислотного залишку Asp (відповідає варіанту А) свідчить про кросування різних генотипів.

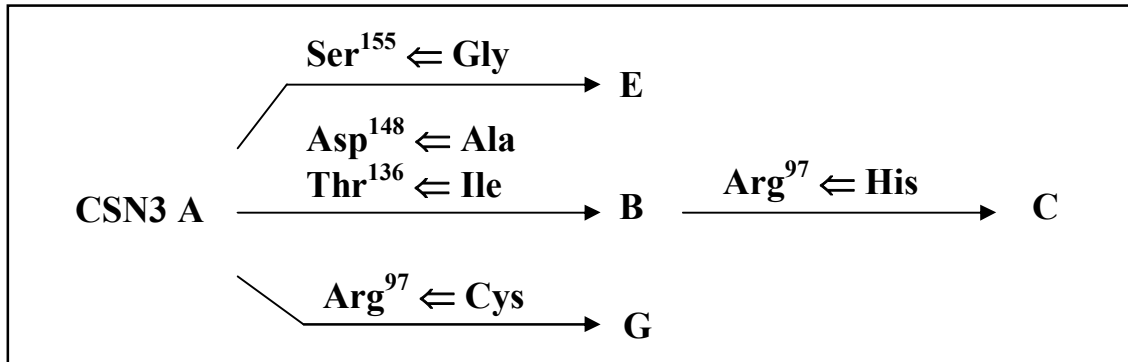


Рис. 1. Білковий поліморфізм CSN3 великої рогатої худоби

Метою нашої роботи було вивчення генофонду великої рогатої худоби, що розводиться на території України, для подальшого підтримання і збереження біологічного різноманіття домашніх видів тварин.

Матеріалом для досліджень слугували проби тканин великої рогатої худоби (вушний вищип) та сперма самців. Проби тканини відбирали за допомогою щипців для мічення тварин та консервували в 100 % етиловому спирті. Подальше зберігання проводили за 20 °С [6].

#### Результати й обговорення

Відомо, що до 1990-х років ХХ сторіччя спрямованої селекції на підвищення частоти аеля В казеїнової фракції молока не проводилось, тому частота основних генотипів АА, АВ, ВВ казеїну молока є результатами автоматичних генетичних процесів в межах досліджених популяцій молочної та молочно-м'ясної худоби.

Однак, слід прийняти до уваги, що до групи казеїнів входять складні фосфопротеїди (залишок фосфорної кислоти створює складний ефір з гідроксильною групою серину і забезпечує високу поживну цінність молока ссавців) і становить до 80 % всіх молочних білків (у вигляді казеїно-генів), містять повний набір незамінних амінокислот, багаті валіном (7 %), лейцином (12 %), лізином (7 %).

У великої рогатої худоби, овець і кіз основні типи казеїнів кодуються кластером генів, а у корів вони визначають і придатність молока до виробництва сирів високої якості.

В Японії особливу увагу надають вивченню субодиниць казеїнових міцел молока, які суттєво впливають на технологічні процеси формування згустку молока, його ніжності і густини. Це особливо важливо при виготовленні продуктів дитячого харчування.

Зараз в Закарпатському регіоні набуває процес відродження буйволоводства. Якість молока серед всіх так званих комерційних порід у буйволів найвища.

**Частоти зустрічностей алелей і генотипів капа-казеїну в досліджуваних популяціях буйволів та великої рогатої худоби України**

Група та порода худоби	Кількість голів, n	Частоти генотипів, n/%			Частоти алелей	
		AA	AB	BB	A	B
1	2	3	4	5	6	7
Буйвол	61	1/1,64	4/6,56	56/91,80	0,049	0,951
Буйвол азербайджано-іранський	3	—	—	3/100	—	1,000
Джерзейська *	8	2/25,00	3/37,50	3/37,50	0,437	0,563
Лебединська	27	8/29,63	9/33,33	10/37,04	0,463	0,537
Бура карпатська	31	10/32,26	15/48,39	6/19,35	0,564	0,436
Симентальська, У1*	96	34/35,42	42/43,75	20/20,83	0,573	0,427
Симентальська, У2 *	27	11/40,74	11/40,74	5/18,52	0,611	0,389
Сіра українська	68	28/48,27	31/53,44	9/15,52	0,640	0,360
Симентал австрійський	18	9/50,00	8/44,44	1/5,55	0,722	0,278

*Примітка:* \*Симентальська У1 — маточне стадо ТОВ «Голосіво»; \*Симентальська У2 — сперма бугаїв-плідників (старий український тип), спермобанк ТОВ «Голосіво».

У таблиці 2 наведені згруповані дані досліджень багатьох авторів, які провели визначення основних генотипів AA, AB, BB за капа-казеїном молока корів, буйволів та новостворених молочних порід на основі схрещування з голштинською породою (чорно- та червоно-рябою) селекції США, Канади, Германії та інших країн світу, а також в популяціях з чистопородним розведенням.

Таблиця 2

**Порівняння частот повторюваності алелей гена капа-казеїну (CSN3) з літературними даними і результатами проведених досліджень**

№ п/п	Порода	n	Частоти алелей			Автори
			A	B	X*	
1.	Буйвол породи Нілі-Раві (Пакистан)	163	0,000	1,000		Riaz M.N.et al.[2008]
2.	Буйвол породи Нілі-Раві	19	0,000	1,000		Mitra et al.[1998]
3.	Буйвол породи Муррах	53	0,000	1,000		
4.	Буйвол єгипетський	11	0,000	1,000		
5.	Буйвол породи Муррах та їх помісі	115	0,000	1,000		Otaviano A.R. et al. [2005]
6.	Буйвол азербайджано-іранський	3	0,000	1,000		Гузєєв Ю.В. [2009]
7.	Буйвол український	61	0,049	0,951		Гузєєв Ю.В., [2009]
8.	Ісландська худоба	44	0,239	0,761		Lien et al [1999]
9.	Шведська гірська худоба	35	0,286	0,714		
10.	Північна фінська худоба	26	0,288	0,712		
11.	Швіцька	72	0,312	0,653	C=0,021 G=0,007 F=0,007	Гладирь О.О. [2001]
12.	Червона горбатівська 2	16	0,433	0,567		Журавель Г.В. [1999]

№ п/п	Порода	n	Частоти алелей			Автори
			A	B	X*	
13.	Східна фінська худоба	31	0,419	0,565	E=0,016	Lien et al [1999]
14.	Джерзейська	8	0,437	0,563		Гузєєв Ю.В. [2009]
15.	Лебединська	27	0,463	0,537		Гузєєв Ю.В. [2009]
16.	Ярославська	52	0,471	0,529		Журавель Г.В. [1999]
17.	Червона горбатівська 3	61	0,492	0,508		
18.	Сіра українська	22	0,500	0,500		
19.	Джерзейська датська	41	0,512	0,488		Lien et al [1999]
20.	Червона горбатівська 1	22	0,531	0,469		Журавель Г.В. [1999]
21.	Шведська полова худоба	28	0,339	0,464	E=0,196	Lien et al [1999]
22.	Якутська	33	0,561	0,439		Гладирь О.О. [2001]
23.	Бура карпатська	31	0,564	0,436		Гузєєв Ю.В. [2009]
24.	Західна фьордська худоба	41	0,573	0,427		Lien et al [1999]
25.	Симентальська У2	96	0,573	0,427		Гузєєв Ю.В. [2009]
26.	Костромська	52	0,596	0,404		Журавель Г.В. [1999]
27.	Чорна уельська	40	0,603	0,397		
28.	Симентальська У1	27	0,611	0,389		Гузєєв Ю.В. [2009]
29.	Червона горбатівська	18 7	0,524	0,382	E=0,072 C=0,006 F=0,016	Гладирь О.О. [2001]
30.	Норвезька західна полова худоба	36	0,625	0,375		Lien et al [1999]
31.	Бура карпатська	22	0,636	0,364		Журавель Г.В. [1999]
32.	Сіра українська	68	0,640	0,360		Гузєєв Ю.В. [2009]
33.	Ярославська чистопородна	50	0,570	0,330	C=0,050 G=0,040 F=0,030	Костюніна О.В. [2005]
34.	Ютландська худоба 1950	48	0,625	0,323	E=0,052	Lien et al [1999]
35.	Симентальська	31	0,690	0,310		Копилова К.В. [2009]
36.	Західна фінська худоба	41	0,671	0,305	E=0,024	Lien et al [1999]
37.	Червоно-ряба	10 7	0,715	0,285		Баршинова та інш. [2003]
38.	Симентал австрійський	18	0,722	0,278		Гузєєв Ю.В. [2009]
39.	Симентальська	13	0,730	0,270		Журавель Г.В. [1999]
40.	Червона горбатівська	79	0,614	0,266	E=0,089 C=0,013 F=0,019	Костюніна О.В. [2005]
41.	Червона датська 1970	39	0,731	0,256	E=0,013	Lien et al [1999]
42.	Ярославська, Михайлівський тип	50	0,680	0,250	C=0,044 G=0,020 F=0,010	Костюніна О.В. [2005]
43.	Голштинська чорно-рябої масті	10	0,750	0,250		Журавель Г.В. [1999]
44.	Українська червоно-ряба молочна	12	0,750	0,250		Копилова К.В. [2009]
45.	Українська червона молочна	59	0,760	0,240		Копилова К.В. [2009]
46.	Голштинська червоно-рябої масті	30	0,770	0,230		Журавель Г.В. [1999]

№ п/п	Порода	n	Частоти алелей			Автори
			A	B	X*	
47.	Східна полова худоба	11	0,773	0,227		Lien et al [1999]
48.	Чорно-ряба (2)	47	0,777	0,202	E=0,021	Костюніна О.В. [2005]
49.	Голштинська	184	0,813	0,187		Танана Л.А. [2010]
50.	Бестужевська чистопородна	49	0,816	0,184		Кастюніна О.В. [2005]
51.	Шведська чорно-ряба худоба	41	0,732	0,183	E=0,085	Lien et al [1999]
52.	Чорно-ряба	72	0,830	0,170		Аліпанах и др. [2004]
53.	Швіцька червоно-ряба худоба	37	0,716	0,162	E=0,122	Lien et al [1999]
54.	Симентальська (1)	23	0,848	0,152		Костюніна О.В. [2005]
55.	Чорно-ряба датська	23	0,848	0,152		Lien et al [1999]
56.	Шортгорнська датська	21	0,857	0,143		Lien et al [1999]
57.	Чорно-ряба (1)	60	0,858	0,142		Костюніна О.В. [2005]
58.	Голштинська чорно-ряба фінська	43	0,744	0,140	E=0,116	Lien et al [1999]
59.	Чорно-ряба	27	0,833	0,130	E=0,037	Гладирь О.О. [2001]
60.	Чорно-ряба	46	0,895	0,105		Журавель Г.В. [1999]
61.	Норвежська худоба	38	0,842	0,092	E=0,066	Lien et al [1999]
62.	Айрширська фінська	46	0,598	0,076	E=0,326	
63.	Чорно-ряба, голландського походження	28	0,928	0,071		Танана Л.А. [2010]
64.	Чорно-ряба (3)	31	0,887	0,048	G=0,065	Костюніна О.В. [2005]

*Примітка:* червона горбатівська 1, 2, 3 — з різною кровністю по голштинину; чорно-ряба 1, 2, 3 — з різною кровністю по голштинину

Популяції худоби вказані в порядку зменшення частот зустрічностей генотипу ВВ.

### Висновки

1. Високопродуктивні породи (голштинська та новостворені на її основі поглинальним схрещуванням породи і генотипи) мають підвищену частоту зустрічності генотипів АА і АВ, що побічно свідчить про зв'язок алелей А і комбінації АВ з підвищеною молочністю і меншою придатністю до отримання твердих сирів високої якості типу «швейцарський».
2. Із поширених порід світового значення — симентальська, та бурі породи: швіцька, лебединська, бура карпатська, джерзейська та інші — характеризуються більшою частотою генотипів АВ і ВВ казеїнових фракцій молока, що сприяло їх успішному використанні для виробництва сирів типу «швейцарський» та іншої продукції на основі підвищеного вмісту в молоці сухих речовин, в т.ч. жиру і білка казеїнової фракції ВВ.
3. Особливої уваги заслуговує сіра степова худоба України, порода молочно-м'ясного та робочого напрямку продуктивності. Частота алеля В в досліджуваній групі сягає показника 0,360, що досягає рівня за цим показником симентальської 0,427–0,389, бурі карпатської 0,436 та інших спеціалізованих порід.
4. Абсолютним чемпіоном за частотою генотипу ВВ-казеїнів молока є буйвол, в т.ч. українського кореня, азербайджано-іранського походження та групи аборигенних порід Індії, Пакистану та країн південної та південно-східної Азії. В них домінує генотип ВВ.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані результати можуть бути використані в практичній селекційній роботі племінних та тваринних господарств з традиційними методами селекції, моніторингу та збереженню генетичного різноманіття конкретних стад на оптимальному рівні, що в кінцевому результаті забезпечить підвищення продуктивності великої рогатої худоби, та введення в відтворення тварин з бажаними генотипами по CSN3.

*J. V. Guzeev*

#### **MILK PROTEIN GENE CLUSTER OF CATTLE**

##### **S u m m a r y**

The article presents the integrated performance of milk albumin of cattle of different genotypes of kappa-casein. DNA diagnostics allows evaluate polymorphism of kappa-casein in the early stages of development, regardless of gender and age of the animals, to adopt animals in the breeding process with the desirable genotype of CSN3.

*Ю. В. Гузеев*

#### **КЛАСТЕР ГЕНОВ БЕЛКОВ МОЛОКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

##### **А н н о т а ц и я**

В статье изложены интегрированные показатели альбуминов молока крупного рогатого скота разных генотипов каппа-казеинов. ДНК-диагностика позволяет оценивать полиморфизм гена каппа-казеина на ранних стадиях онтогенеза, независимо от пола и возраста животных, внедрять в селекционный процесс животных с желательными генотипами CSN3.

1. *Завертяев Б. П.* Проблемы сохранения генофонда сельскохозяйственных животных / *Завертяев Б. П.* // Сельское хозяйство за рубежом. — 1983. — №11. — С. 47–51.
2. *Паронян И. А.* Пути сохранения генофонда крупного рогатого скота / *И. А. Паронян, А. А. Истомин* // Животноводство. — 1985. — № 5. — С. 17–19.
3. *Облап Р. В.* Аналіз генетичної структури локальних порід за молекулярно-генетичними маркерами / *Р. В. Облап, С. І. Тарасюк, В. І. Глазко, Л. Звержовскі* // Агроекологія і біотехнологія : зб. наук. праць. — Київ, 1999. — Вип. 3. — С. 161–168.
4. *Столповская О. В.* Сравнительное исследование полиморфизма белков серой украинской породы / *О. В. Столповская, Ю. А. Столповский, Л. В. Годованец* // Цитология и генетика. — К., 1992. — Вип. 5, № 26. — С. 11–17.
5. *Костюнина О. В.* Автореферат дисс. канд. биол. наук / *О. В. Костюнина.* — Дубровицы : ВИЖ, 2004. — 22 с.
6. *Зиновьева Н. А.* Введение в ДНК-диагностику. / *Н. А. Зиновьева* / Методы исследования и биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы международной научной конференции. — Дубровицы, 2005.
7. *Танана Л. А.* Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник научных трудов. / *Л. А. Танана и соавтор.* — Горки 2010. — Вип. 13, ч. 2. — С. 140–145.
8. *Алексеева Н. Ю.* Новые данные о казеиновом комплексе молока / *Н. Ю. Алексеева, П. Ф. Дяченко.* — М. : Центральный институт информации пищевой промышленности государственного комитета по пищевой промышленности при Госплане СССР, 1986. — 56 с.

9. *Тинаев А. Ш.* Влияние генотипа каппа-казеина на молочную продуктивность и состав молока первотелок черно-пестрой породы / А. Ш. Тинаев, Л. А. Калашникова, К. К. Аджибеков // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы конференции. — Дубровицы, 2003. — С. 140–141.
10. *Юхманова Н. А.* Качественные показатели молока коров-первотелок красно-пестрой породы с разными генотипами / Н. А. Юхманова, Л. А. Калашникова // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы конференции. — Дубровицы, 2003. — С. 152–153.
11. *Горбатова К. К.* Биохимия молока и молочных продуктов : 3-е изд./ К. К. Горбатова. — СПб : ГИОРД, 2004. — 320 с.
12. *Riaz M. N.* Molecular marker assisted study of kappa-casein gene in Nili-Ravi (buffalo) breed of Pakistan / M. N. Riaz, N. A. Malik, F. Nasreen et al // Pakistan Vet. J. — 2008. — V. 28. (3). — P. 103–106.
13. *Mitra A.* Kappa-casein polymorphisms in Indian dairy cattle and buffalo: A new genetic variant in buffalo / A. Mitra, P. Schlee, I. Krause et al // Animal Biotechnology. — 1998. — V. 9(2). — P. 81–87.
14. *Otaviano A. R.* Kappa-casein gene study with molecular markers in female buffaloes (*Bubalus bubalis*) / A. R. Otaviano, H. Tonhati, J. A. Desiderio Sena et al // Genet. Mol. Biol. — 2005. — Vol. 28 № 2.

**Рецензент:** головний науковий співробітник відділу «Агроресурси» Інституту водних проблем і меліорації НААН, доктор сільськогосподарських наук, професор, член-кореспондент НААН Д. Т. Віннічук.

УДК 636.22/28.082

## **СЕЛЕКЦІЙНА РОБОТА З ЛІНІЯМИ ТА РОДИНАМИ ПРИ ВДОСКОНАЛЕННІ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ**

*М. І. Кузів*

Інститут біології тварин НААН

*Вивчено показники молочної продуктивності корів української чорно-рябої молочної породи отриманих від поєднань різних ліній. Встановлено, що продуктивність тварин залежить від лінійної належності батьків та специфічності їхніх поєднань. Проаналізовано провідні маточні родини, вивчено ступінь впливу продуктивності родоначальниці на загальногрупові характеристики родин. Встановлено найбільш оптимальне поєднання ліній та родин.*

**Ключові слова:** ПОРОДА, РОЗВЕДЕННЯ, СЕЛЕКЦІЯ, ЛІНІЯ, РОДИНА, ПОЄДНАННЯ ЛІНІЙ, МОЛОЧНА ПРОДУКТИВНІСТЬ.

Розведення сільськогосподарських тварин за лініями є основним методом удосконалення порід при чистопородному розведенні. Подальше вдосконалення і закріплення господарсько корисних якостей порід на основі відбору і підбору неможливе без розведення тварин за лініями [1–5]. При розведенні тварин за лініями одним із методів підбору є крос ліній, який супроводжується найчастіше однорідним підбором з обов'язковим врахуванням поєднуваності ліній і можливістю підсилення ознаки, недостатньо вираженої в лінії або виправлення характерних для неї недоліків. Крос ліній в консолідованих популяціях використовується, як правило, з врахуванням