

ДК 636.32/38.034:577.22

DOI: <https://doi.org/10.31073/abg.62.13>

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНУ β -ЛАКТОГЛОБУЛІНУ ТА МОЛОЧНА ПРОДУКТИВНІСТЬ ОВЕЦЬ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ

В. М. ІОВЕНКО, К. В. СКРЕПЕЦЬ, Г. О. ЯКОВЧУК, І. М. СВИСТУЛА

Інститут тваринництва степових районів імені М. Ф. Іванова «Асканія-Нова» – Національний науковий селекційно-генетичний центр з вівчарства (Асканія-Нова, Україна)

<https://orcid.org/0000-0002-0829-7844> – В. М. Іовенко

<https://orcid.org/0000-0002-8873-3801> – К. В. Скрепець

<https://orcid.org/0000-0002-2141-8540> – Г. О. Яковчук

*<https://orcid.org/0000-0002-7981-7923> – І. М. Свістула
skrepets@gmail.com*

Мета. Здійснити генетичний аналіз структури популяції овець української селекції за параметрами поліморфного гену β -лактоглобуліну і дослідити асоціації між окремими генотипами цього локусу та рівнем молочної продуктивності вівцематок. **Методи.** Молекулярно-генетичні, популяційно-статистичні, біометричні. **Результати.** Досліджено генетичну структуру популяції овець асканійської тонкорунної (АТП) та асканійської каракульської (АКП) порід за варіантами гену бета-лактоглобуліну (β -LG). Встановлено, що в досліджених стадах овець локус цього гену проявляє поліморфні властивості. Аналіз філогенетичних відносин між дослідженими генотипами овець різного за походженням та параметрами вовнового покриву (тонкорунні і грубововнові) не виявив суттєвих міжпородних відмінностей. Зокрема, відсутні вірогідні різниці за рівнем гетерозиготності ($H_e = 0,481; 0,500$) та поліморфності локусу ($n_e = 1,93; 1,99$). Крім цього, обидві популяції знаходяться в стані генетичної рівноваги за Харді-Вайнбергом ($\chi^2 = 0,77; 0,78$). Досліджено також кореляції генотипів β -лактоглобуліну з ознаками молочної продуктивності овець. Показано, що існує різновекторний характер асоціацій в кожній із популяцій. Зокрема, в середовищі однієї з них (АТП) кралицями за надоєм молока є гомозиготи β -LG A/A – 594 мл проти 330 та 354 мл в інших генотипах, а в середовищі АКП, навпаки, тварини з гомозиготним генотипом β -LG B/B – 407 мл проти 240 та 318 мл. **Висновки.** Отримані дані в комплексі з іншими існуючими методами оцінки генотипу овець можуть бути використані в якості біохімічного тесту стану генотипу породи, а також для прогнозу на їх основі рівня розвитку ознак молочної продуктивності тварин.

Ключові слова: вівці, популяція, β -лактоглобулін, поліморфізм, генетична структура, молочно продуктивність

POLYMORPHISM OF THE B-LACTOGLOBULIN GENE AND DAIRY PRODUCTIVITY OF DIFFERENT SHEEP'S GENOTYPES

V. M. Iovenko, K. V. Skrepets, H. O. Yakovchuk, I. M. Svistula

«Ascania Nova» Institute of Animal Breeding in the Steppe Regions named after M. F. Ivanov – National Scientific Selection-Genetics Center for Sheep Breeding (Askania Nova, Ukraine)

Aim. To establish the level of β -lactoglobulin polymorphism in the populations of the Ascanian selection sheep and to study their genetic structure. **Methods.** Molecular genetics, population statistical, biometric. **Results.** The genetic structure of the Ascanian Fine-Fleeced (AFF) and Ascanian Karakul (AK) sheep populations was studied using variants of the β -LG polymorphic gene. It was found that in the studied sheep herds, the locus of this gene exhibits polymorphic properties. An analysis of the phylogenetic relationships between the studied genes pools of sheep with different hair coat (fine-fleeced and coarse-wooled) did not establish significant interbreed differences. There are also no significant differences in the level of heterozygosity ($H_e = 0.481; 0.500$) and in the degree of polymorphism of the locus ($n_e = 1.93; 1.99$). In addition, both populations are in a state of genetic equilibrium according to Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 0.77; 0.78$). The degree of correlation between β -lactoglobulin genotypes and parameters of sheep dairy productivity the Merino and Karakul breeds was also investigated. It is shown that there is a multi-vector relationship nature in each populations. In particular, among the individuals of the first of them (AFF), the best in milk yield are homozygotes β -LG A/A – 594 ml versus 330 and 354 ml, and among the other (AK), on the contrary, animals with homozygous genotype β -LG B/B – 470 ml versus 240 and 318 ml. **Conclusions.** The obtained data on the level of β -lactoglobulin gene polymorphism in combination with other existing methods for assessing sheep can be used on their basis as a biochemical test for the breed gene pool state, as well as for predicting the animals' productive qualities development level.

Keywords: sheep, population, β -lactoglobulin, polymorphism, genetic structure, dairy productivity

Вступ. Білки овчого молока одні з найцінніших серед білків тваринного походження, особливо бета-лактоглобулін [26]. Локус β -LG є найбільш дослідженим серед генів, що впливають на рівень розвитку різних господарсько-корисних ознак овець. Звідси відомо, що β -LG зв'язує безліч гідрофобних молекул, а однією з важливих його функцій вважають транспорт ретинолу. Білок β -лактоглобуліну складається зі 162 амінокислот [18]. Він міститься в молоці у вигляді стабільного димера. Жуйним тваринам характерна присутність одного локусу, що кодує його різні алелі, в той час як у нежуйних (коні) є два, а у кішок навіть три локуси [13]. Цей ген вперше був секвенований саме у овець [8, 12] та віднесений до хромосоми 3. Його повна послідовність складається із 7379 нуклеотидів, розташованих в семи невеликих екзонах та шести інтронах [5]. Було ідентифіковано три генетичні варіанти: А, В, С [7]. Варіанти А та В описані в порядку зменшення рухливості [4] та відрізняються амінокислотними замінами в положенні 20 (Tyr A \rightarrow His B) [2] (Bell et al., 1967). Багаточисельні літературні джерела свідчать, що алелі β -LG^A та β -LG^B мають широке розповсюдження і виявляються в окремих тканинах тварин [14], тоді як алель β -LG^C, що є підтипом форми β -LG^A з однією амінокислотою заміною Arg \rightarrow Glu в положенні 14, був виявлений лише в молоці семи порід овець, таких як Merinoland, Lacha, Carranzana, Spanish Merino, Serra da Estrela, White Merino та Black Merino [7, 19, 22, 23, 24].

Багато дослідників різних порід овець вказують на те, що білок β -LG є перспективним з точки зору впливу на якість та кількість молока, його сироварні властивості [16, 17, 20, 22], а ген, що контролює цей білок, є найбільш дослідженим серед тих, що впливають на прояв різних господарськи корисних ознак. У більшості генофондів він знаходиться під контролем двох алелів (β -LG^A та β -LG^B) і має високі поліморфні властивості. Наприклад, серед 86 досліджених порід світу його поліморфізм варіює від 1,0 за алелем β -LG^A в одних породах, до 1,0 за алелем β -LG^B – в інших [24]. Проте, серед овець різного походження та напряму продуктивності в багатьох випадках відмінності між породами за частотою двох зазначених алельних варіантів носять незначний характер [1].

Крім визначення рівня поліморфізму окремих QTL-генів та аналізу генетичної структури порід популяцій овець важливим завданням досліджень з генетики цього виду тварин є впровадження сучасних ДНК-технологій прямого аналізу генетичної інформації особин на рівні структурних генів, що беруть безпосередню участь у формуванні корисних властивостей

овець. В цьому контексті дослідження впливу окремих маркерів гену β -лактоглобуліну на параметри молочної продуктивності овець дозволило виявити в різних генофондах вірогідні відмінності в рівнях розвитку цієї ознаки. Але отримані результати у більшості випадків носять різноплановий характер. Так, серед овець порід Karakul та Votosani кращою молочною продуктивністю відрізнялися вівцематки з гетерозиготним генотипом β -LG A/B [9]. У іспанських мериносів найвищі надой молока отримують від овець з гомозиготою β -LG B/B [3], а у порід Tellorman Black Head – з гомозиготою β -LG A/A [10].

В цілому дані стосовно впливу цього гену на показники молочної продуктивності є досить розрізненими та суперечливими як щодо впливу того чи іншого алелю на певний показник, так і наявності впливу цього гену взагалі. Зокрема, не виявлено суттєвих відмінностей у прояві показників молочної продуктивності тварин різних генотипів за цим локусом у чотирьох порід овець (Noami, Sawakni, Harry та Nagdi), які розводяться у Саудівській Аравії [5]. У повідомленні щодо впливу гену β -LG на рівень молочної продуктивності овець остфриської породи авторами також не встановлено жодного зв'язку окремих генотипів з рівнем прояву цієї продуктивної ознаки тварин [25].

Тобто, однозначного зв'язку маркерів гену β -лактоглобуліну з рівнем молочної продуктивності овець різних генофондів не встановлено.

Проте, загалом на сьогодні у вівчарстві вже виявлено окремі гени з високою вірогідністю асоційовані з молочними якість тварин. Тому концепція подальшого розвитку досліджень у царині використання молекулярно-генетичних маркерів в селекції овець передбачає поступовий перехід до широкого використання сучасних технологій безпосереднього визначення особливостей генетичного поліморфізму ділянок ДНК з метою розробки нових, ефективних методів і способів оцінки генотипів та підвищення рівня племінної роботи. При цьому передбачається, що дослідження будуть спрямовані на вивчення закономірностей прояву дії асоціацій генів, котрі забезпечують високу продуктивність тварин, оцінку та паспортизацію генофондів порід, типів і популяцій свійських овець з метою збереження, розвитку та раціонального використання існуючих генетичних ресурсів, проведення системних моніторингових досліджень генетичних параметрів провідних племінних стад овець у зв'язку з часовою та просторовою диференціацією, а також під впливом різних природно-екологічних факторів [27].

Комплексне дослідження геному сільськогосподарських тварин було і залишається предметом багаточисельних досліджень. Ці дослідження спрямовані на виявлення особливостей генетичної структури, вивчення експресії генів, які, в свою чергу, відіграють ключову роль у формуванні або регуляції біохімічних та фізіологічних процесів і, тим самим, безпосередньо впливають на прояв економічно-корисних ознак продуктивності тварин. В цьому контексті ген бета-лактоглобуліну вважається маркером молочної продуктивності овець та є одним з генів-кандидатів, що можуть бути використані в маркер-асоційованій селекції [6]. Однак, до останнього часу поліморфізм цього гену у овець української селекції в контексті детального аналізу генетичної структури окремих популяцій та асоціацій маркерів локусу з ознаками молочної продуктивності вівцематок не досліджувався. Цим і пояснюється основна мета нашої роботи.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження були проведені в лабораторії генетики Інституту тваринництва степових районів «Асканія-Нова». У зв'язку з поставленою метою було генотиповано за геном β -LG 42 голови овець різних генофондів, з яких 16 належало до асканійської тонкорунної породи (АТП), а 26 – до асканійської каракульської (АКП). Відбір індивідуальних зразків крові вівцематок здійснювали з яремної вени з використанням вакуумної системи забору крові VenoSafe 3,9 mg EDTA K2 (Belgium) у 42 тварин.

Виділення ДНК з дослідних зразків крові проводили з використанням набору реагентів «S-сорб» за стандартною методикою (Синтол, РФ).

Визначення генотипів тварин здійснювали методом ПЛР-ПДРФ.

Для ампліфікації фрагменту гену використовували наступний склад суміші реактивів: 4,6 μ l вільної від нуклеаз H_2O ; 2,0 μ l PCR 5-х буфера; 1,0 μ l суміші dNTP 10-х (2 mM кожного); 0,8 μ l двох праймерів; 0,1 μ l taq-полімерази; 1,5 μ l ДНК. Загальний об'єм суміші складав 10 μ l.

Для ампліфікації фрагменту гену використовували наступні праймери [16]:

F: 5'- TTG GGT TCA GTG TGA GTC TGG -3'

R: 5'- AAA AGC CCT GGG TGG GCA GC -3'.

Полімеразну ланцюгову реакцію проводили з використанням програмованого ампліфікатора Libe Line (Germany) за наступними температурними режимами: Hot start – 2 хв. при 74°C, початкова денатурація – 5 хв. при 95°C, далі 33 цикла: денатурація – 40 с при 95°C, відпал праймерів – 40 с при 67°C і синтез – 40 с при 72°C. Завершує реакцію термінальна елонгація – 5 хв. при 72°C. Довжина ділянки ампліфікації гену β -LG становила 452 bp.

Для ферментації ампліфікованого фрагменту використовували рестриктазу RsaI (GT/AC) (СибЕнзім, РФ), відповідно до стандартної методики виробника з режимом інкубації 37°C впродовж 12–15 годин [16]. Розділення продуктів рестрикції (15 μ l) здійснювали за допомогою горизонтального електрофорезу при напрузі струму 80 V впродовж 1 години. Форез проводили у 2,5% агарозному гелі з додаванням етідиуму броміду (0,01%).

Візуалізацію отриманих результатів здійснювали за допомогою транслюмінатора (Neogen, Україна) в УФ світлі з довжиною хвилі 312 nm. Розміри рестрикційних фрагментів визначали за допомогою маркеру молекулярних мас pUC19/MspI (СибЕнзім, РФ).

Також було проведено науково-господарчий дослід з доїння атестованого поголів'я овець. Дослід з оцінки рівня молочної продуктивності тривав 30 днів та здійснювався наступним чином. Перше контрольне доїння з визначення рівня індивідуального надою було проведено на початку дослідження, наступні три – з інтервалом у 10 днів. Доїння проводилося двічі на добу, вранці та ввечері. Із загального надою досліджуваних тварин були відібрані зразки молока об'ємом 20 ml у стерильні контейнери з полістиролу, при цьому середня проба точно характеризувала надій в цілому. Консервант при відборі проб не використовувався. Зразки досліджувалися з використанням ультразвукового аналізатору молока «Ekomilk Total» (Ultrasonic Milk Analyzer) (BULTEH 2000 Ltd., Bulgaria) протягом двох годин після їх отримання за температури зразка 20°C. Загальний добовий надій визначався добутком вранішнього та вечірнього надоїв.

На основі результатів ПЛР частоти алелів та генотипів і рівні гетерозиготності (фактично-Но та очікувану-Не) розраховували за використання комп'ютерної програми GenALEx6.0 [21]. Інформаційний зміст поліморфізму (PIC) визначали за допомогою on-line калькулятора. Індекс фіксації Райта (Fis), ефективне число алелей локуса (n_e), стан генетичної рівноваги за Харді-Вайнбергом – за загальноприйнятими класичними методами. Аналіз асоціацій між генотипами та продуктивними параметрами за методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA).

Результати досліджень. Встановлено, що у досліджених генераціях як серед асканійських мериносів, так і асканійських каракульських овець ген β -LG є поліморфним і контролюється двома алелями (β -LG^A та β -LG^B), котрі утворюють тири генотипи. При цьому генотип AA характеризується наявністю трьох сайтів рестрикції та, відповідно, чотирьох фрагментів довжиною 175 п. н., 170 п. н., 66 і 41 п. н. Для генотипу AB характерна присутність чотирьох сайтів рестрикції, що призводить до формування п'яти фрагментів довжиною 236 п. н., 175 п. н., 170 п. н., 66 і 41 п. н., а генотип BB має два сайти рестрикції та три ділянки довжиною 236 п. н., 175 п. н. та 41 п. н.

За концентрацією перевагу отримав гетерозиготний генотип β -LG A/B – відповідно 56,3 та 61,5%. На другому місці знаходиться гомозигота β -LG B/B (31,2; 23,1%) і на останньому – гомозигота β -LG A/A (12,5; 15,4%) (табл. 1). Відповідно за частотою прояву алельних варіантів локусу в обох популяціях овець більшу частку отримав алель β -LG^B (0,594; 0,538).

Щодо інших популяційно-генетичних параметрів, то встановлено досить високий ступінь гетерозиготності популяцій за геном β -LG ($H_e = 0,481; 0,500$), що вказує на їх суттєву

генетичну мінливість. З цим параметром пов'язаний інший – рівень поліморфності локусу (n_e), який являє собою число діючих ефективних алелів у популяції. В нашому прикладі в обох досліджених групах овець величина n_e склала 1,93; 1,99, що вказує на високі поліморфні властивості гену β -лактоглобуліну. Також встановлено високий показник інформаційного змісту поліморфізму гену β -LG ($PI_C = 0,366; 0,374$). Це значення наближається до максимально можливого для діалельних генетичних систем [11] і свідчить про оптимальні, з точки зору інформативності генетичного маркера, умови, необхідні для проведення асоціативних досліджень.

1. Параметри генетичної структури популяцій овець асканійської тонкорунної та асканійської каракульської порід за локусом β -лактоглобуліна

Популяція	Генотип, %			Алель		Популяційно-генетичний параметр					
	A/A	A/B	B/B	A	B	Ho	He	PIc	n_e	Fis	χ^2
АТП	12,5	56,3	31,2	0,406	0,594	0,482	0,481	0,366	1,93	+0,37	0,78
АКП	15,4	61,5	23,1	0,462	0,538	0,497	0,500	0,374	1,99	+0,71	1,77

Індекс фіксації Райта (Fis) кількісно оцінює нестачу або надлишок фактичної гетерозиготності порівняно з теоретично обчисленою. Характер величини даного параметра в обох стадах овець має однакове, правостороннє відхилення, що свідчить про домінуючий вплив відбору саме на користь гетерозиготних генотипів, а звідси і на зростання мінливості популяцій овець досліджених генофондів.

Порівняння фактичної і теоретичної гетерозиготності використовують також для встановлення стану генетичної рівноваги популяції за Харді-Вайнбергом. В цьому контексті показано, що за низьких значень χ^2 (1,77 та 0,78) популяції характеризуються наявністю генетичного балансу.

Кожен структурний ген виконує в організмі певну функцію, яка через генетичний гомеостаз впливає на синтез білкових продуктів і, в результаті, визначає величину і якість продуктивної та фізіологічної ознаки.

Ген β -LG є геном-кандидатом молочної продуктивності тварин. Майже у всіх ссавців, окрім гризунів та приматів, основний сироватковий білок молока – це саме β -лактоглобулін. Його вміст у молоці овець складає більше 50%, що багато в чому визначає якість продукту. Взагалі, молоко овець – надзвичайно цінний продукт харчування людини. До його складу входить 5,6% білків, більше 5,0% жирів, 4,8% – вуглеводів, калорійність – 109,7 ккал. Воно майже у два рази поживніше за коров'яче, а вітамінів А та В у ньому набагато більше, ніж у молоці корів [15]. Молоко овець характеризується також високим вмістом кальцію та цинку. З цієї сировини виготовляють різноманітні, надзвичайно цінні продукти і не тільки. Наприклад, косметологи застосовують це молоко для отримання кремів, що відрізняються унікальними властивостями та корисністю.

Таким чином, овече молоко є високоякісним продуктом харчування людини і не тільки. Але останніми десятиліттями в нашій державі для розвитку відповідної підгалузі вівчарства приділяється мало уваги. Зокрема, відсутні спеціалізовані породи овець вітчизняної селекції з цього напрямку продуктивності, а в середовищі існуючих племінна робота на розвиток даної ознаки майже не проводиться, не кажучи вже про сучасну геномну селекцію. Тому нами започатковано дослідження зі встановлення можливих асоціацій між молекулярно-генетичними маркерами та рівнем розвитку основних продуктивних ознак овець асканійського походження, в тому числі й ознаки молочної продуктивності вівцематок.

На початковому етапі було встановлено рівень наступних ознак молочної продуктивності овець двох порід: відсоток жиру, сухого знежиреного молочного залишку (СЗМЗ), білка та лактози, щільність молока (табл. 2).

В результаті показано, що загальний середньодобовий надій по всіх досліджених тваринах склав 354,48 мл, при цьому вівці асканійської тонкорунної породи перевершували каракульських за величиною середньодобового надою (371,09 мл проти 337,87 мл), СЗМЗ (12,25

проти 12,10%), білка (4,63% проти 4,58%) та лактози (6,68% проти 6,59%), також молоко тонкорунних овець мало більшу щільність. Проте, каракульські вівцематки позитивно відрізнялися більшим вмістом жиру в молоці (7,16% проти 6,28%).

2. Середні показники молочної продуктивності овець досліджуваних порід

Порода	Загальний надій, мл	Жир, %	СЗМЗ, %	Щільність, г/см ³	Білок, %	Лактоза, %
АТП	371,09 ± 23,98	6,28 ± 0,746	12,25 ± 0,072	41,09 ± 0,602	4,63 ± 0,03	6,68 ± 0,035
АКП	337,87 ± 16,63	7,16 ± 0,90	12,10 ± 0,14	39,68 ± 0,72	4,58 ± 0,056	6,59 ± 0,07
Разом	354,48 ± 16,61	6,72 ± 0,441	12,17 ± 0,078	40,38 ± 0,709	4,61 ± 0,025	6,64 ± 0,045

Щодо рівня впливу гену β -LG на окремі ознаки молочної продуктивності вівцематок, визначеного однофакторним дисперсійним аналізом, встановлено наступне (табл. 3). Сумарна сила впливу генотипів цього локусу в межах окремих порід має доволі суттєві відмінності. Зокрема, в АТП ця сила за більшістю показників, окрім вмісту жиру, займає значення, близькі до середньої величини ($\eta_2 = 38,0\text{--}46,0\%$), а в АКП така залежність більше, ніж у два рази нижча ($\eta_2 = 18,0\text{--}21,0\%$). Вважаємо, що такі суттєві відмінності зумовлені генетичними особливостями порід.

3. Сила впливу (η_2) генотипів гену β -LG на ознаки молочної продуктивності вівцематок, %

Ознака продуктивності	Порода	
	АТП	АКП
Середньодобовий надій, мл	38,0	18,0
Вміст жиру, %	13,0	3,0
СЗМЗ, %	45,0	21,0
Щільність молока, г/см ³	46,0	11,0
Вміст білка, %	45,0	21,0
Вміст лактози, %	46,0	21,0

Стосовно асоціацій між окремими генотипами гену β -лактоглобуліну та ознаками молочної продуктивності овець двох різноякісних за характером вовнового покриву порід встановлено, що в групі овець, представленої особинами асканійської тонкорунної породи, за рівнем надою молока найбільше виділялася малочисельна група з рідкісним генотипом β -LG А/А (табл. 4).

4. Рівень ознак молочної продуктивності овець асканійської тонкорунної породи різних генотипів за геном β -LG

Ознака продуктивності	Генотип			Середня по вибірці
	А/А	А/В	В/В	
Середньодобовий надій, мл	594,4 ± 220,630	330,8 ± 29,341	354,25 ± 36,670	371,1 ± 35,470
Жир, %	5,9 ± 0,459	6,2 ± 0,192	6,6 ± 0,334	6,3 ± 0,159
СЗМЗ, %	11,5 ± 0,288	12,3 ± 0,116*	12,4 ± 0,145*	12,2 ± 0,108*
Білок, %	4,3 ± 0,113	4,7 ± 0,044*	4,7 ± 0,056*	4,6 ± 0,041*
Лактоза, %	6,3 ± 0,149	6,7 ± 0,062*	6,7 ± 0,074*	6,7 ± 0,058*
Щільність, г/см ³	38,4 ± 0,788	41,5 ± 0,455*	41,4 ± 0,357*	41,1 ± 0,380**
n	2	9	5	16

* по відношенню до генотипу β -LG А/А

Її перевага над іншими групами складала 40,4–43,8%. Але за іншими складовими продуктивності тварини цієї групи вірогідно ($p < 0,05$) поступалися генотипам β -LG А/В та β -LG

В/В. Тобто, за поживністю кращими є продуценти – носії алелю β -LG^B. Тому, на наш погляд, більш цікавими для селекціонерів повинні бути тварини саме з цим алельним геном.

Стосовно групи овець асканійської каракульської породи, то картина абсолютно протилежна (табл. 5). За загальним надоем молока вівцематки з генотипом β -LG A/A, на відміну від своїх ровесниць асканійської тонкорунної породи, суттєво поступалися особинам з іншими генотипами локусу β -лактоглобуліну. Різниця на користь останніх складала 25,0–41,5% ($P < 0,05$). Проте, за вмістом жиру, білка, лактози, сухого знежиреного молочного залишку та щільністю молока вірогідно в кращий бік виділялася малочисельна група тварин з генотипом β -LG A/A. Тобто в цілому можна зробити попередній висновок про те, що між генетичними маркерами локусу β -лактоглобуліну та окремими ознаками молочної продуктивності овець асканійської тонкорунної та асканійської каракульської порід існують певні асоціації. Проте, в залежності від походження та напряму вовнової продуктивності порід ці зв'язки мають свій породоспецифічний характер.

5. Рівень ознак молочної продуктивності овець асканійської каракульської породи різних генотипів за геном β -LG

Ознака продуктивності	Генотип			Середня по вибірці
	A/A	A/B	B/B	
Середньодобовий надій, мл	240,3 ± 41,210	318,9 ± 26,706	407,1 ± 62,099	327,2 ± 24,078
Жир, %	7,7 ± 1,200	7,8 ± 0,411	7,1 ± 0,228	7,6 ± 0,307
СЗМЗ, %	12,5 ± 0,182	12,1 ± 0,119	11,8 ± 0,151*	12,1 ± 0,093
Білок, %	4,7 ± 0,075	4,6 ± 0,045	4,5 ± 0,058*	4,6 ± 0,036
Лактоза, %	6,8 ± 0,096	6,6 ± 0,065	6,4 ± 0,084*	6,6 ± 0,051
Щільність, г/см ³	41,0 ± 1,110	39,3 ± 0,606	38,6 ± 0,669*	39,4 ± 0,449
n	4	16	6	26

* по відношенню до генотипу β -LG A/A

Висновки. В популяціях овець різного генезису ген β -лактоглобуліну знаходиться у поліморфному стані і детермінується двома кодомінантними алелями (β -LG^A, β -LG^B). На сьогодні у досліджених генофондах за частотою прояву переважає алель β -LG^B – 0,594; 0,538, а за концентрацією – гетерозиготний генотип β -LG A/B – 56,3%; 61,5%. За рівнем поліморфності локусу та ступенем гетерозиготності величина цих показників в залежності від різного спрямування вовнової продуктивності овець майже не відрізняється, 1,93–1,99; та 0,481–0,500 відповідно. За індексом фіксації Райта в обох стадах спостерігається правостороннє відхилення цього параметру, що свідчить про відбір на користь гетерозиготних генотипів ($F_{is} = +0,37$; $+0,71$). Порівняння фактичного і теоретично розрахованого розподілу генотипів виявило наявність генетичної рівноваги популяцій за цим геном. Тобто, селекційно-племінна робота, що здійснюється в стадах, не має суттєвого впливу на стан їх генетичної структури за дослідженим поліморфним геном.

Оскільки ген β -лактоглобуліну є одним із тих, що контролюють формування молочної продуктивності овець, то нами було досліджено рівень впливу його генотипів на цю продуктивну ознаку і встановлено, що протилежність у генезисі порід зумовлює різновекторний характер асоціацій між зазначеними факторами. Зокрема, у середовищі асканійської тонкорунної породи за середньодобовим надоем молока кращими є вівцематки з генотипом β -LG A/A – 594 мл проти 330 та 354 мл у ровесників, а за вмістом білка, молочного жиру, лактози, сухого знежиреного молочного залишка та щільністю молока перевага є за генотипом β -LG B/B ($p < 0,05$). В асканійській каракульській породі за надоем молока, навпаки, кращими виявилися особини з генотипом β -LG B/B, а за іншими показниками – тварини з альтернативним генотипом. Гетерозиготні вівцематки за всіма показниками займали положення, близьке до середнього по стаду. Таким чином, у овець різного походження та напряму продуктивності

маркери гену β -LG мають різний рівень впливу на розвиток молочної продуктивності овець досліджених генотипів.

Отримані дані в комплексі з іншими існуючими методами оцінки генотипу овець можуть бути використані в якості біохімічного тесту стану генотипу породи, а також для прогнозу на їх основі рівня розвитку ознак молочної продуктивності тварин.

Дотримання етичних стандартів. Всі міжнародні, національні та/або інституціональні принципи догляду та використання тварин були дотримані.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Arora R., Bhatia S., Mishra B. Genetic polymorphism of the beta-lactoglobulin gene in native sheep from India. *Biochemical Genetics*. 2010. Vol. 48. P. 304–311. DOI: 10.1007/s10528-009-9323-6. Epub 2010 Jan 6.

2. Bell K., McKenzie H. The whey proteins of ovine milk: β -lacto globulins A and B. *Biochimical*. 1967. Vol. 147. P. 123–134. DOI: [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(67\)90095-5](https://doi.org/10.1016/0005-2795(67)90095-5) (Дата звернення: 23.05.2021).

3. Corral J., Padilla J., Izquierdo M. Associations between milk protein genetic polymorphisms and milk production traits in Merino sheep breed. *Livestock Science*. 2010. Vol. 129. P. 73–79.

4. Elmazi C., Oner Y., Balcioglu M. β -lactoglobuline gene types in Karacabey Merino sheep breeds using PCR-RFLP. *Journal Appl. Anim. Res.* 2007. Vol. 32 (2). P. 145–148. DOI: <https://doi.org/10.1080/09712119.2007.9706865> (Дата звернення: 11.05.2021).

5. El-Shazly S., Mahfouz M., Al-Otaibi S. Genetic polymorphism in β -lactoglobulin gene of some sheep breeds in the Kingdom of Saudi Arabia (KSA) and its influence on milk composition. *African Journal of Biotechnology*. 2012. Vol. 11 (19). P. 4330–4337. DOI: 10.5897/AJB11.3278

6. Elyasi G., Shodja S., Nassiry M. N. Polymorphism of β -Lactoglobulin Gene Iranian Sheep Breeds Using PCR-RFLP. *Journal of molecular Genetics*. 2010. Vol. 2 (1). P. 6–9. Medwell Journals. DOI:10.3923/jmolgene.2010.6.9.

7. Erhard G., Godovac-Zimmermann J., Conti A. Isolation and complete primary sequence of a new ovine wild-type beta-lactoglobulin C. *Biological Chemistry Hoppe Seyler*. 1989. Vol. 370 (7). P. 757-762. DOI: 10.1515/bchm3.1989.370.2.757.

8. Feligini M., Parma P., Aleandri R. PCR-RFLP test for direct determination of β -Lactoglobulin genotype in sheep. *Animal Genetics*. 1998. Vol. 29 (6). P. 473–474.

9. Georgescu S., Isfan N., SME. Kevorkian. The correlation of production characteristics with the genetic variants of the encoding locus of β -lactoglobulin in three sheep breeds from Romania. *Archiv a Zootechnica*. 2011. Vol. 14 (1). P. 41–49.

10. Gras M., Pistol G., Pelmus R. Relationship between gene polymorphism and milk production traits in Teleorman Black Head Sheep Breed. *Rev. MVZ Córdoba*. 2016. Vol. 21 (1). P. 5124–5136.

11. Hao L. L., Yu H., Zhang Y. Single nucleotide polymorphism analysis of exons 3 and 4 of IGF-1 gene in pigs. *Genetics Molecular Research*. 2011. Vol. 10. P. 1689–1695. DOI:10.4238/vol10-3gmr1328.

12. Harris S., Ali S., Anderson S. Complete nucleotide sequence of the genomic ovine beta-lactoglobulin gene. *Nucleic Acids Research*. 1988. Vol. 16 (21). P. 10379–10380. PMID: 3194215 PMCID: PMC338880 DOI:10.1093/nar/16.21.10379.

13. Ivanković A. Polymorphism of β -lactoglobulin and α S1-casein genes in sheep. *Acta agriculturae Slovenica*. 2004. Vol. 84 (2). P. 121–130.

14. Kusza S., Szyszkosz N., Nagy K. Preliminary result of a genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene and the phylogenetic study of ten Balkan and central European indigenous sheep breeds. *Acta Biochimica Polonica*. 2015. Vol. 62, No 1/2015. P. 109–112. <https://www.researchgate.net/publication/275328897> (Дата звернення: 02.04.2021)

15. Lesyk O., Pohyvka M. Sheep's milk production and its processing into various dairy products under the conditions of Bukovina. *Sheep breeding and Goat breeding*. 2018. Vol. 3. P. 109–119. <http://nbuv.gov.ua/UJRN/vivkoz-2018-3-13> (Дата звернення: 23.06.2021).

16. Mohammadi A., Nasiri M., Elyasi G. Genetic polymorphism of β -Lactoglobulin in Certain Iranian and Russian Sheep breeds. *Iranian Journal of Biotechnology*. 2002. Vol. 4. № 4. P. 265–268.
17. Nassiry M., Eftekhari F., Javadmanesh A. Genetic variability in beta-lactoglobulin, calpastatin and calpain loci in Kurdi sheep. *Proceedings of the British Society of Animal Science*. 2007. Vol. 2007. P. 143. DOI: <https://doi.org/10.1017/s1752756200020469> (Дата звернення: 03.06.2021).
18. Nei M. Genetic distance between populations. *Amer. Natur.* 1972. Vol. 106. № 946. P. 283–291. DOI: <https://doi.org/10.1086/282771> (Дата звернення: 03.06.2021).
19. Perez M., Calvo M. Interaction of β -lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: a review. *Journal of Dairy Science*. 1995. Vol. 78, Is. 5. P. 978–988. DOI: [http://dx.doi.org/10.3168/jdsS0022-0302\(95\)76713-3](http://dx.doi.org/10.3168/jdsS0022-0302(95)76713-3) (Дата звернення: 25.05.2021).
20. Ramos A., Matos C., Russo-Almeida P. Candidate genes for milk production traits in Portuguese dairy sheep. *Small Rum. Res.* 2009. Vol. 82. P. 117–121. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.02.007> (Дата звернення: 21.04.2021).
21. Rashaydeh F., Sholi N., Al-Atiyat R. Genetic polymorphisms of milk genes (β -lactoglobulin and κ -casein) in indigenous Awassi and improved Awassi sheep of Palestine. *Livestock Research for Rural Development*. 2020. Vol. 32. <http://www.lrrd.org/lrrd32/5/raeda32075.html> (Дата звернення: 01.04.2021).
22. Reekall R., Smouse P. Gen AILEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetics software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*. 2012. Vol. 28 (19). P. 2537–2539. DOI: <10:1093/bioinformatics/bts460> (Дата звернення: 11.04.2021).
23. Recio I., Fernandez-Fournier A., Martin-Alvarez P. β -lactoglobulin polymorphism in ovine breeds: influence on cheese making properties and milk composition. *Lait*. 1997. Vol. 77 (2). P. 259–265. DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/lait:1997218>.
24. Selvaggi M., Laudadio V., Dario C. Investigating the genetic polymorphism of sheep milk proteins: a useful tool for dairy production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014. Vol. 94 (15). P. 3090–3099. DOI:10.1002/jsfa.6750.
25. Selvaggi M., Laudadio V., Dario C. β -lactoglobulin Gene Polymorphisms in Sheep and Effects on Milk Production Traits. *A Review Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2015. Vol. 3. Iss. 9. P. 478–484. DOI:<http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.9.478/484>.
26. Staiger E., Thonney M., Buchanan J. Effect of prolactin, β -lactoglobulin, and κ -casein genotype on milk yield in East Friesian sheep. *Journal of Dairy Science*. 2010. Vol. 93 (4). P. 1736–1742. DOI:10.3168/jds.2009-2630.
27. Stapay P., Burda P. Peculiarities of chemical composition and biological value of sheep's milk. *Biologia tvaryn – Animal Biology*. 2010. Vol. 12 (1). P. 44–53.
28. Truhachev V., Selionova M., Krivoruchko A. The Sheep Meat Productiviti Genetic Markers. *Agricultural Biology*. 2018. Vol. 6. № 6. P. 1107–1119. DOI: <10/15389/agrobiology.2018.6.1107>

REFERENCES

1. Arora, R., S. Bhatia, and B. Mishra. 2010. Genetic polymorphism of the beta-lactoglobulin gene in native sheep from India PMID: 20052531 *Biochem Genet.* Apr; 48(3–4):304–11. DOI: <10.1007/s10528-009-9323-6>. Epub 2010 Jan 6 (in English).
2. Bell, K., and H. Mckenzie. 1967. The whey proteins of ovine milk: β -lacto globulins A and B. *Biochim – Biophys. Acta.* 147:123–134. DOI: [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(67\)90095-5](https://doi.org/10.1016/0005-2795(67)90095-5) (in English).
3. Corral, J., J. Padilla, and M. Izquierdo. 2010. Associations between milk protein genetic polymorphisms and milk production traits in Merino sheep breed. *Livestock Science*. 129:73–79. (in English).
4. Elmaci, C., Y. Oner, and M. Balcioglu. 2007. β -lactoglobuline gene types in Karacabey Merino sheep breeds using PCR-RFLP. *Journal Appl. Anim. Res.* 32(2):145–148. DOI: <https://doi.org/10.1080/09712119.2007.9706865> (in English).

5. El-Shazly, S., M. Mahfouz M, and S. Al-Otaibi. 2012. Genetic polymorphism in β -lactoglobulin gene of some sheep breeds in the Kingdom of Saudi Arabia (KSA) and its influence on milk composition. *African Journal of Biotechnology*. 11(19):4330–4337, DOI: 10.5897/AJB11.3278 (in English).
6. Elyasi, G, S. Shodja, and M. N. Nassiry. 2010. Polymorphism of β -Lactoglobulin Gene Iranian Sheep Breeds Using PCR-RFLP. *Journal of molecular Genetics* 2(1):6–9, Medwell Journals. DOI:10.3923/jmolgene.2010.6.9 (in English).
7. Erhard, G., J. Godovac-Zimmermann, and A. Conti. 1989. Isolation and complete primary sequence of a new ovine wild-type beta-lactoglobulin C. *Biol. Chem. Hoppe Seyler*. 370(7):757–62 DOI: 10.1515/bchm3.1989.370.2.757 (in English).
8. Feligini, M., P. Parma, and R. Aleandri R. 1998. PCR-RFLP test for direct determination of β -Lactoglobulin genotype in sheep. *Anim. Genet.*, 29(6):473–4 (in English).
9. Georgescu, S., and N. Isfan, SME. Kevorkian. 2011. The correlation of production characteristics with the genetic variants of the encoding locus of β -lactoglobulin in three sheep breeds from Romania. *Archiva Zootechnica*. 14(1):41–49 (in English).
10. Gras, M., G. Pistol, and R. Pelmus. 2016. Relationship between gene polymorphism and milk production traits in Teleorman Black Head Sheep Breed. *Rev. MVZ Córdoba*. 21(1):5124–5136. (in English).
11. Hao, L. L., H. Yu, and Y. Zhang. 2011. Single nucleotide polymorphism analysis of exons 3 and 4 of IGF-1 gene in pigs. *Genet Mol. Res*. 10:1689–95. DOI:10.4238/vol10-3gmr1328 (in English).
12. Harris, S., S. Ali, and S. Anderson. 1988. Complete nucleotide sequence of the genomic ovine beta-lactoglobulin gene. *Nucleic Acids Research*. 16(21):10379–80. PMID: 3194215 PMCID: PMC338880 DOI:10.1093/nar/16.21.10379 (in English).
13. Ivanković, A. 2004. Polymorphism of β -lactoglobulin and α S1-casein genes in sheep. *Acta agriculturae Slovenica*. 84 (2):121–130 (in English).
14. Kusza, S., N. Sziszkosz, and K. Nagy. 2015. Preliminary result of a genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene and the phylogenetic study of ten Balkan and central European indigenous sheep breeds. *Acta Biochimica Polonica*. 62(1):109–112. DOI: <https://www.researchgate.net/publication/275328897> (in English).
15. Lesyk, O., and M. Pohyvka. 2018. Sheep's milk production and its processing into various dairy products under the conditions of Bukovina. *Sheep breeding and Goat breeding*. 3:109–119. DOI: <http://nbuv.gov.ua/UJRN/vivkoz-2018-3-13> (in English).
16. Mohammadi, A., M. Nasiri, and G. Elyasi. 2002. Genetic polymorphism of β -Lactoglobulin in Certain Iranian and Russian Sheep breeds. *Iranian Journal of Biotechnology*. 4(4):265–268 (in English).
17. Nassiry, M., F. Eftekhari, and A. Javadmanesh. 2007. Genetic variability in beta-lactoglobulin, calpastatin and calpain loci in Kurdi sheep. *Proceedings of the British Society of Animal Science*. 143. DOI: <https://doi.org/10.1017/s1752756200020469> (in English).
18. Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Natur*. 106(946):283–291. DOI: <https://doi.org/10.1086/282771> (in English).
19. Perez, M., and M. Calvo. 1995. Interaction of β -lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: a review. *Journal of Dairy Science*. 78(5):978–988. DOI: [http://dx.doi.org/10.3168/jdsS0022-0302\(95\)76713-3](http://dx.doi.org/10.3168/jdsS0022-0302(95)76713-3) (in English).
20. Ramos, A., C. Matos, and P. Russo-Almeida. 2009. Candidate genes for milk production traits in Portuguese dairy sheep. *Small Rum. Res*. 82:117–121. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.02.007> (in English).
21. Rashaydeh, F., N. Sholi, and R. Al-Atiyat. 2020. Genetic polymorphisms of milk genes (β -lactoglobulin and κ -casein) in indigenous Awassi and improved Awassi sheep of Palestine. *Livestock Research for Rural Development*. 32(75). http://www.lrrd.org/lrrd32/5/raeda_32075.html (in English).

22. Reekall, R., and P. Smouse. 2012. Gen AILEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetics software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. 28 (19):2537–2539. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460 (in English).
23. Recio, I., A. Fernandez-Fournier, and P. Martin-Alvarez. 1997. β -lactoglobulin polymorphism in ovine breeds: influence on cheese making properties and milk composition. *Lait*. 77 (2):259–265. DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/lait:1997218> (in English).
24. Selvaggi, M., V. Laudadio, and C. Dario. 2014. Investigating the genetic polymorphism of sheep milk proteins: a useful tool for dairy production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 94 (15):3090–3099. DOI:10.1002/jsfa.6750 (in English).
25. Selvaggi, M., V. Laudadio, and C. Dario. 2015. β -lactoglobulin Gene Polymorphisms in Sheep and Effects on Milk Production Traits. *A Review Advances in Animal, and Veterinary Sciences*. 3(9):478–484. DOI: <http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.9.478/484> (in English).
26. Staiger, E., M. Thonney, and J. Buchanan. 2010. Effect of prolactin, β -lactoglobulin, and κ -casein genotype on milk yield in East Friesian sheep. *Journal of Dairy Science*. 93(4):1736–1742. DOI:10.3168/jds.2009-2630 (in English).
27. Stapay, P., and P. Burda. 2010. Peculiarities of chemical composition and biological value of sheep's milk. *Animal Biology*. 12(1):44–53 (in English).
28. Truhachev, V., M. Selionova, and A. Krivoruchko. 2018. The Sheep Meat Productivity Genetic Markers. *Agricultural Biology*. 6(6):1107–1119. DOI: 10/15389/agrobiology.2018.6.1107 (in English).

Одержано редколегією 19.10.2021 р.

Прийнято до друку 23.11.2021 р.