

УДК 636.32/38.082.12

DOI:10.31677/2072-6724-2020-57-4-82-87

АССОЦИАЦИЯ ГЕНОТИПОВ β -ЛАКТОГЛОБУЛИНА С НЕКОТОРЫМИ БИОХИМИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КРОВИ ОВЕЦ РОМАНОВСКОЙ ПОРОДЫ**Е. А. Климанова**, аспирант**Т. В. Коновалова**, старший преподаватель**В. А. Андреева**, аспирант**О. С. Короткевич**, доктор биологических наук, профессор**В. Л. Петухов**, доктор биологических наук, профессор**Ю. С. Назаренко**, аспирант**Ключевые слова:** овцы, романовская порода, полиморфизм, β -лактоглобулин, альбумин, мочевины, мочевая кислота**Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия**
E-mail: [vet-gen-dep@nsau.edu.ru](mailto:veter-gen-dep@nsau.edu.ru)

Реферат. Важной проблемой в селекции является оценка генофонда и фенотипа сельскохозяйственных пород. Точность молекулярно-генетических методов намного выше, чем фенотипического наблюдения с целью улучшения пород. Для их успешного применения необходимо установить связь генотипа с желаемым признаком. Поэтому целью нашего исследования было изучение у романовских овец связи генотипов по локусу β -Lg с некоторыми биохимическими показателями крови. Изучена связь генотипов по локусу β -Lg с количеством альбумина, мочевины и мочевой кислоты у овец романовской породы. На популяции из 23 овец романовской породы нами был исследован полиморфизм гена β -лактоглобулина. Взятие образцов крови у овец проводилось по стандартным методикам. Анализ был выполнен в лаборатории эколого-ветеринарной генетики и биохимии Новосибирского государственного аграрного университета. Для анализа использовали стандартные наборы для биохимических исследований. Уровень биохимических показателей определяли на биохимическом анализаторе Photometer 5010 V5+. Выделение ДНК проводили по стандартной методике. Для установления генотипов использовали метод ПЦР-ПДРФ. Установлено, что аллель β -LgA встречается чаще, чем β -LgB, в сибирской популяции романовских овец. У гомозиготных животных В/В концентрация альбумина была в 1,2 раза выше ($P<0,05$), чем у особей с генотипом А/А. Не выявлено связи генотипов β -Lg с количеством мочевины и мочевой кислоты в крови.

ASSOCIATION OF β -LACTOGLOBULIN GENOTYPES WITH SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE BLOOD OF ROMANOV SHEEP**E.A. Klimanova**, PhD student**T.V. Konovalova**, Senior Professor**V.A. Andreeva**, PhD student**O.S. Korotkevich**, Doctor of Biological Sc., Professor**V.L. Petukhov**, Doctor of Biological Sc., Professor**Yu.S. Nazarenko**, PhD student

Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk. Russia

Key words: sheep, Romanov breed, polymorphism, β -lactoglobulin, albumin, urea, uric acid.

Abstract. The assessment of the gene pool and phenofund of agricultural breeds is an issue in livestock breeding. The accuracy of molecular genetic methods is much higher than phenotypic observation in order to improve breeds. It is necessary to establish relationship between the

genotype and the desired trait for their successful application. Therefore, the purpose of our study was to study the relationship of genotypes at the β -Lg locus with some biochemical blood parameters in Romanov sheep. The relationship of genotypes at the β -Lg locus with the amount of albumin, urea and uric acid in Romanov sheep was studied. On a population of 23 sheep of the Romanov breed, we studied the polymorphism of the β -lactoglobulin gene. Blood sampling was carried out from sheep according to standard methods. The analysis was performed in the laboratory of ecological and veterinary genetics and biochemistry of the Novosibirsk State Agrarian University. Standard kits for biochemical studies were used for the analysis. The level of biochemical parameters was determined using a Photometer 5010 V5 + biochemical analyzer. DNA isolation was carried out according to the standard procedure. To establish genotypes, the PCR-RFLP method was used. It was found that in the Siberian population of Romanov sheep the β -LGA allele is more common than β -LGB. In homozygous B / B animals, the albumin concentration was 1.2 times higher ($P < 0.05$) than in individuals with the A / A genotype. No relationship was found between the β -Lg genotypes and the amount of urea and uric acid in the blood.

Важной задачей в селекции животных является изучение фенофона и генофона пород [1, 2]. Исследование генетического полиморфизма сельскохозяйственных животных в настоящее время активно проводится с учетом климато-географических условий обитания пород. Особое внимание уделяется производству экологически чистой продукции. Это достигается путем анализа состояния воды, почвы, кормов, органов и тканей животных на концентрацию макро- и микроэлементов [3].

В последние годы растет интерес к разведению и всестороннему изучению овец. Это стало причиной большого числа исследований, связанных с генетическим потенциалом овец, в частности романовской породы [4–6].

Романовская порода играет важную роль в сохранении генетического разнообразия и генетического потенциала овец. Однако в настоящее время в Кемеровской области находится единственная в Сибири популяция романовских овец [7]. В нашем исследовании мы уделили внимание изучению молочного белка β -лактоглобулина у овец этой породы.

Установлено, что полиморфизм молочного белка у овец связан с количественными и качественными показателями, в частности с признаками молока. Поэтому он имеет большое значение в программах животноводства,

и в перспективе возможно будет использовать его в программах генетической селекции молочных пород овец [8].

Белок β -лактоглобулина (β -Lg) представляет собой одну из основных составляющих белков молочной сыворотки. Он кодируется геном BLg и считается одним из основных белков сыворотки, присутствующих в молоке жвачных животных [9,10]. Его полиморфизм тесно связан с некоторыми свойствами овечьего молока. Лocus β -Lg у овец расположен на 3-й хромосоме и содержит 7 экзонов и 6 интронов [11]. Известны три полиморфных генетических варианта – β -LgA, β -LgB и β -LgC [12]. Доказано влияние полиморфизмов гена BLg на компоненты, а также свойства молока [13, 14].

Имеется большое число исследований гена β -Lg [15–17], однако нет данных о связи генотипов β -лактоглобулина с биохимическими показателями крови. Поэтому целью нашего исследования является изучение у романовских овец связи генотипов по локусу β -Lg с количеством альбумина, мочевины и мочевой кислоты в крови.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование проводилось на 23 овцах романовской породы (рисунок). Образцы крови были взяты в вакуумные пробирки из яремной вены (10 мл).

Определено, что в Кемеровской области в зоне обитания овец уровень тяжелых металлов в воде, почве и кормах не превышал ПДК [18–21].



Популяция романовских овец Кузбасса
Population of Romanov sheep of Kuzbass

Насыщенность сыворотки крови мочевиной и мочевой кислотой определяли с помощью наборов реактивов «Новокарб» ЗАО «Вектор-Бест». Измерение для мочевины проводили при длине волны 640 нм, для мочевой кислоты – 520–550 нм.

Для проведения ПЦР в эппендорфы объемом 0,5 мл добавляли по 10 мкл образца ДНК и по 40 мкл мастер-микса в каждую пробирку. Далее помещали образцы в термоциклер. С целью проверки результатов амплификации ПЦР использовали 1,5%-й гель-электрофорез с бромистым этидием. Для электрофореза в каждую лунку добавляли по 5 мкл, в первой лунке был маркер размеров ДНК.

Была проведена амплификация фрагмента β -Lg размером 120 п.н. В результате действия рестриктазы RsaI при электрофорезе в агарозном геле аллель β -LgA дает три полосы – 66, 37 и 17 п.н. Аллель β -LgB дает только два фрагмента длиной 103 и 17 п.н., у гетерозигот наблюдаются все четыре фрагмента. Обнаружен полиморфизм по локусу

β -Lg у овец романовской породы в популяции Кузбасса.

Данные исследований обработаны с использованием программ Microsoft Office Excel и STATISTICA 8.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В этом исследовании мы проанализировали влияние генотипа β -лактоглобулина на биохимические показатели крови. А. А. Волниным и др. [22] было изучено содержание микроэлементов в крови овец романовской породы, однако их связь с генотипами не была рассмотрена.

В исследуемой нами популяции овец были идентифицированы два генетических варианта β -лактоглобулина (А и В) и три генотипа (β -LgAA, β -LgAB и β -LgBB).

Выявлена связь генотипов β -лактоглобулина с уровнем альбумина в крови (табл. 1). Показано, что у животных В/В концентрация альбумина была выше, чем у особей с геноти-

Таблица 1

Связь генотипов β-лактоглобулина с количеством альбумина (г/л) в сыворотке крови
Relationship of β-lactoglobulin genotypes with the amount of albumin (g / l) in blood serum

Генотип	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	Me	Q ₁	Q ₃	IQR
A/A	13	34,60±1,85	39,000	38,000	43,300	5,330
A/B	5	38,20±1,77	39,000	35,300	41,300	6,000
B/B	5	40,90±2,04	39,000	30,700	38,300	7,670

Примечание: Q1 – первая квартиль; Q3 – третья квартиль, IQR – межквартильный диапазон.

Note: Q1 – first quartile; Q3 – third quartile; IQR – interquartile range.

пом A/A (P<0,05). У гетерозигот A/B концентрация альбумина также выше, чем у особей с генотипом A/A.

Далее нами была изучена связь генотипа β-лактоглобулина с концентрацией мочеви-

ны и мочевой кислоты в крови (табл. 2). По данным показателям достоверные различия обнаружены не были. Можно предположить, что β-лактоглобулин не связан с уровнем мочевины и мочевой кислоты.

Таблица 2

Содержание мочевины и мочевой кислоты (мкмоль/л) у овец с различными генотипами β-Lg
The content of urea and uric acid (μmol / l) in sheep with different genotypes β-Lg

Генотип	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	Me	Q ₁	Q ₃	IQR
<i>Мочевина</i>						
A/A	13	6,38±0,51	6,000	4,730	7,900	3,170
A/B	5	6,00±0,59	6,100	4,800	6,870	2,070
B/B	5	5,24±0,83	5,3004	3,630	6,800	3,170
<i>Мочевая кислота</i>						
A/A	13	56,80±5,73	55,500	48,100	66,500	18,400
A/B	5	62,00±6,45	58,100	52,000	71,900	19,900
B/B	5	53,40±6,42	57,900	39,000	65,200	26,300

Таким образом, у овец романовской породы, разводимых в Западной Сибири, выявлена связь генотипа β-Lg B/B с количеством альбумина в сыворотке крови.

ВЫВОДЫ

1. В сибирской популяции овец романовской породы аллель β-LgA встречается чаще, чем β-LgB. Встречаемость гомозиготных A/A

особей была в 5,6 раза выше, чем с генотипом β-Lg B/B.

2. Выявлена связь генотипов β-Lg с уровнем альбумина. Содержание альбумина в сыворотке крови овец с генотипом B/B было в 1,2 раза выше (P<0,05), чем у гомозиготных особей A/A, а гетерозиготы занимали промежуточное положение.

3. Не выявлено связи генотипов по β-Lg с уровнем мочевины и мочевой кислоты в сыворотке крови.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Биология*, генетика и селекция овцы / А. В. Кушнир, В. И. Глазко, В. А. Петухов [и др.]. – Новосибирск: НГАУ, 2010. – 524 с.
2. *Wafaa I. I.* Association of β-lactoglobulin gene polymorphism with milk production and composition in local awassi sheep // *Plant Archives*. – 2019. – N 19. – P. 284–288.
3. *Ecological and biochemical evaluation of elements contents in soils and fodder grasses of the agricultural lands of Siberia / A. I. Syso, V. A. Sokolov, V. L. Petukhov [et al.] // J. Pharm. Sci. and Res.* – 2017. – N. 9 (4). – P. 368–374.

4. *Direct* determination of cooper, lead and cadmium in the whole bovine blood using thick film modified graphite electrodes / T. V. Skiba, A. R. Tsygankova, N. S. Borisova [et al.] // *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. – 2017. – Vol. 9 (6). – P. 958–964.
5. *Single* nucleotide polymorphism in dairy cattle populations of West Siberia / O. S. Korotkevich, M. P. Lyukhanov, V. L. Petukhov [et al.] // *Proceedings of the 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver, Canada, August 17–22*. – Publishing office: Promega, 2014. – P. 487.
6. *Copper* content in hair, bristle and feather in different species reared in Western Siberia / T. V. Konovalova, K. N. Narozhnykh, V. L. Petukhov, Y. I. Fedyayev [et al.] // *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. – 2017. – Vol. 44. – P. 74.
7. *Emine S., Taki K., Cengiz E.* Beta-lactoglobulin gene types in turkish fat-tailed sheep breeds // *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* – 2011. – N 17 (6). – P. 1031–1033.
8. *Basanti J., Prakash V.* β -Lactoglobulin gene polymorphism in Indian sheep breeds of different agro-climatic regions // *Indian Journal of Animal Science*. – 2014. – N 84 (10). – P. 1133–1136.
9. *Genetic* diversity and structure of the west balkan plamenka sheep types as revealed by microsatellite and mitochondrial DNA analysis / M. Cinkulov, Z. Popovsky, K. Porcu [et al.] // *J. Anim. Breed Genet.* – 2008. – N 125. – P. 417–426.
10. *Elmaci C., One Y., Balcioglu M.S.* β -lactoglobulin gene types in karacabey merino sheep breeds using PCR-RFLP // *J. Appl. Anim. Res.* – 2007. – N 32. – P. 145–148.
11. *Elmaci C., One Y., Balcioglu.* Genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene in native turkish sheep breeds // *Biochemical Genetics*. – 2006. – N 44. – P. 379–385.
12. *Correlations* of some biochemical and hematological parameters with polymorphisms in AS1-casein and β -lactoglobulin genes in Romanov sheep breed / T. V. Konovalova, O. I. Sebezhko, W. Li [et al.] // *Proceedings of the International Symposium on animal science ISAS*. – 2018. – P. 47.
13. *Influence* of elevated Zn on the hematology, serum biochemistry and productive indicators in laying hen / V. L. Petukhov, I. A. Afonina, M. A. Kleshchev [et al.] // *Indian Journal of Ecology*. – 2019. – N 46 (4). – P. 901–906.
14. *Wodas L., Mackowski M.* Genes encoding equine β -lactoglobulin (LGB1 and LGB2): Polymorphism, expression, and impact on milk composition // *PLoS ONE*. – 2020. – N 15 (4). – P. 1–14.
15. *Влияние* генотипа баранов-производителей на количество фрагментов хромосом в клетках потомства / В. А. Андреева, Венронг Ли, Мингжун Лью [и др.] // *Вестник НГАУ*. – 2019. – № 4 (53). – С. 23–31.
16. *Cadmium* accumulation in soil, fodder, grain, organs and muscle tissue of cattle in West Siberia (Russia) / K. N. Narozhnykh, T. V. Konovalova, V. L. Petukhov [et al.] // *International Journal of Advanced Biotechnology and Research (IJBR)*. – 2016. – Vol. 7, Is. 4. – P. 1758–1764.
17. *Analysis* of trace elements in the hair of farm animals by atomic emission spectrometry with DC Arc excitation sources / A. R. Tsygankova, A. V. Kuptsov, A. I. Saprykin [et al.] // *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. – 2017. – Vol. 9 (5). – P. 601–605.
18. *Закономерности* аккумуляции тяжелых металлов в легких бычков герефордской породы в Западной Сибири / К. Н. Нарожных, Т. В. Коновалова, О. С. Короткевич [и др.] // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – № 6. – С. 1447.
19. *Однонуклеотидный* полиморфизм в популяции крупного рогатого скота красной степной породы / М. П. Люханов, О. С. Короткевич, О. С. Себежко, Н. С. Юдин // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – № 1. – С. 326.
20. *Связь* SNPS гена TNF у черно-пестрого скота Западной Сибири с показателями молочной продуктивности / М. П. Люханов, О. С. Короткевич, В. Л. Петухов, О. И. Себежко // *Главный зоотехник*. – 2014. – № 10. – С. 21–26.
21. *Саурбаева Р. Т., Андреева В. А., Пиотровская Д. В.* Содержание меди в шерсти потомков некоторых баранов-производителей романовской породы // *Теория и практика современной аграрной науки: сб. II Нац. науч. конф.* – Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос», 2019. – С. 349–351.
22. *Содержание* микроэлементов в крови овец романовской породы / А. А. Волнин, С. Ю. Зайцев, В. А. Багиров, И. В. Гусев // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2015. – № 10. – С. 13–19.

REFERENCES

1. Kushnir A. V., Glazko V. I., Petukhov V. A., Dimov G., Storozhuk S. I., *Biologiya, genetika i selektsiya ovtsy* (Biology, genetics and sheep breeding), Novosibirsk: NGAU, 2010, 524 p.
2. Wafaa I. I., *Plant Archives*, 2019, No.19, pp. 284–288.
3. Syso A. I., Sokolov V. A., Petukhov V. L., *J. Pharm. Sci. and Res*, 2017, No. 9 (4), pp. 368–374.
4. Skiba T. V., Tsygankova A. R., Borisova N. S., *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2017, Vol. 9 (6), pp. 958–964.
5. Korotkevich O. S., Lyukhanov M. P., Petukhov V. L., Yudin N. S., *Proceedings of the 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Vancouver, Canada, August 17–22, Publishing office: Promega, 2014, pp. 487.
6. Konovalova T. V., Narozhnykh K. N., Petukhov V. L., Fedyaev Y. I., *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2017, Vol. 44, pp. 74.
7. Emine S., Taki K., Cengiz E., *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg*, 2011, No. 17 (6), pp. 1031–1033.
8. Basanti J., Prakash K. V., *Indian Journal of Animal Science*, 2014, No. 84 (10), pp. 1133–1136.
9. Cinkulov M., Popovsky Z., Porcu K., Blagica T., *J. Anim. Breed Genet*, 2008, No. 125, pp. 417–426.
10. Elmaci C., One Y., Balcioglu M. S., *J. Appl. Anim. Res*, 2007, No. 32, pp. 145–148.
11. Elmaci C., One Y., Balcioglu M. S., *Biochemical Genetics*, 2006, No. 44, pp. 379–385.
12. Konovalova T. V., Sebezshko O. I., Li Wenrong, *Proceedings of the International Symposium on animal science, 22nd-23rd November 2018 (ISAG)*, 22 University of Belgrade, Zenum, Belgrade, 47 p.
13. Petukhov V. L., Afonina I. A., Kleshchev M. A., Sebezshko O. I., Korotkevich O. S., Kostomakhin N. M., Konovalova T. V., Narozhnykh K. N., Adushinov D. S., Goncharenko G. M., Nezavitin A. G., Klimenok I. I., Nazarenko A. V., Klimanova E. A., Osadchuk L. V., *Indian Journal of Ecology*, 2019, No. 46 (4), pp. 901–906.
14. Wodas L., Mackowski M., *PLoS ONE*, 2020, No. 15 (4), pp. 1–14.
15. Andreeva V. A., Venrong Li, Mingzhun L'yu, Saurbaeva R. T., Konovalova T. V., Klimanova E. A., Sebezshko O. I., Nazarenko A. V., *Vestnik NGAU*, 2019, No. 4 (53), pp. 23–31. (In Russ.)
16. Narozhnykh K. M., Konovalova T. V., Petukhov V. L., *International Journal of Advanced Biotechnology and Research (IJBR)*, 2016, Vol.7, Issue 4, pp. 1758–1764.
17. Tsygankova A. R., Kuptsov A. V., Narozhnykh K. N., *Journal Pharm aceutical Sciences and Research*, 2017, Vol. 9 (5), pp. 601–605.
18. Narozhnykh K. N., Konovalova T. V., Korotkevich O. S., Petukhov V. L., Sebezshko O. I., *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 2014, No. 6, pp. 1447. (In Russ.)
19. Lyukhanov M. P., Korotkevich O. S., Sebezshko O. S., Yudin N. S., *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 2014, No. 1, pp. 326. (In Russ.)
20. Lyukhanov M. P., Korotkevich O. S., Petukhov V. L., Sebezshko O. I., *Glavnyi zootekhnik*, 2014, No. 10, pp. 21–26. (In Russ.)
21. Saurbaeva R. T., Andreeva V. A., Piotrovskaya D. V. *Sb. II Nacional'noj nauch. konf. Teoriya i practica sovremennoj agrarnoj nauki*, 2019, pp. 349–351. (In Russ.)
22. Volnin A. A., Zaitsev S. Yu., Bagirov V. A., Gusev I. V., *Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya*, 2015, No. 10, pp. 13–19. (In Russ.)