

РІВЕНЬ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ *Blg* У ОВЕЦЬ АСКАНІЙСЬКОЇ КАРАКУЛЬСЬКОЇ ТА АСКАНІЙСЬКОЇ ТОНКОРУННОЇ ПОРІД

К. В. Скрепець, кандидат сільськогосподарських наук
ORCID ID: 0000-0002-8873-3801

Г. І. Рукавнікова
ORCID 0000-0001-6009-6583

Г. О. Яковчук
ORCID ID: 0000-0002-2141-8540

Інститут тваринництва степових районів імені М. Ф. Іванова
«Асканія-Нова» - Національний науковий селекційно-генетичний
центр з вівчарства
вул. Соборна, 1, смт Асканія-Нова, Чаплинський р-н,
Херсонська обл., 75230, Україна
e-mail: ascitsr_priemnaya@ukr.net

Надійшла 08.05.2020

Мета. Дослідити поліморфізм гену бета-лактоглобуліну (*Blg*) у овець двох порід асканійської селекції. **Методи.** Виділення геномної ДНК овець асканійської тонкорунної (АТП, $n=16$) та асканійської каракульської порід (АКП, $n=26$) із цільної крові проводили з використанням набору ДНК Сорб-Б, дотримуючись рекомендацій виробника реагентів. Визначення генотипів проводилося методом ПЛР-ПДРФ з використанням ендонуклеази рестрикції *RsaI* (GT/AC). Розділення продуктів рестрикції гена *Blg* здійснювали у 3% агарозному гелі з додаванням бромистого етидію. Результат рестрикції візуалізували з використанням УФ-транспілюмінатора. Розрахунки проводили методами популяційної біометрії. **Результати.** Встановлено поліморфізм гену *Blg* у овець обох порід асканійської селекції. Довжина ділянки ампліфікації гену *Blg* складала 452 п.н. Ген виявився представленим двома алелями та трьома генотипами. Генотип AA характеризувався 3 сайтами рестрикції та мав 4 рестрикційні фрагменти :175 п.н., 170 п.н., 66 п.н. та 41 п.н. Генотип АВ мав 4 сайти рестрикції та 5 фрагментів: 236 п.н., 175 п.н., 170 п.н., 66 п.н., 41 п.н. Генотип ВВ мав 2 сайти рестрикції та 3 ділянки: 236 п.н., 175 п.н., 41 п.н.

В обох досліджених породах виявлено два алельні варіанти ге-

на з невеликою перевагою алелю *Blg*B над *Blg*A: 0,594 проти 0,406 в АТП, та 0,538 проти 0,462 в АКП. Визначено три генотипи: AA, BB та AB, що проявлялися з частотою 12,5%, 31,25% і 56,25% в АТП та 15,38%, 23,08% і 61,54% в АКП відповідно. **Висновки.** Вперше досліджений на вівцях асканійської тонкорунної та асканійської каракульської породи ген бета-лактоглобуліну виявився поліморфним. Це дозволить в подальшому провести дослідження щодо можливої зв'язку окремих генотипів *Blg* з ознаками молочної продуктивності.

При визначенні основних популяційно-генетичних параметрів двох досліджених порід овець встановлено, що обидві популяції за геном *Blg* мають достатню гетерозиготність з невеликим фактичним надлишком гетерозиготних генотипів, максимально можливу кількість діючих алелів, та в цілому знаходяться в стані генетичної рівноваги, про що свідчать низькі значення показника χ^2 .

Ключові слова: алель, генотип, ДНК, метод ПЛР-ПДРФ.
DOI: <https://doi.org/10.33694/2415-3958-2020-1-5-191-201>

THE *Blg* GENE POLYMORPHISM LEVEL of ASCANIAN KARAKUL and ASCANIAN FINE-FLEECE SHEEP BREEDS

K. V. Skrepets, Candidate of Agricultural Sciences

ORCID ID: 0000-0002-8873-3801

H. I. Rukavnikova

ORCID 0000-0001-6009-6583

H. O. Yakovchuk

ORCID ID: 0000-0002-2141-8540

“Ascania Nova” Institute of Animal Breeding in the Steppe Regions
named after M. F. Ivanov - National Scientific Selection-Genetics

Center for Sheep Breeding

1, Soborna Street, Askania Nova, Chaplynka district,

Kherson region, 75230, Ukraine

e-mail: ascitsr_priemnaya@ukr.net

Aim. To study the polymorphism of the beta-lactoglobulin (*Blg*) gene in sheep of Ascanian breeding two breeds. **Methods.** Isolation of genomic DNA of Ascanian Fine-Fleeced sheep (AFF, $n = 16$) and Ascanian Karakul breeds (AK, $n = 26$) from whole blood was performed using a Sorb-B DNA kit, following the recommendations of the reagent manufacturer.

Genotypes were determined by PCR-RFLP using restriction endonuclease *RsaI* (GT / AC). The separation of *Blg* gene restriction products was carried out on a 3% agarose gel with the addition of ethidium bromide. The restriction result was visualized using a UV transilluminator. The calculation was performed by population biometric methods. **Results.** The *Blg* gene polymorphism was established in sheep of Askanian breeding two breeds. The *Blg* gene length of the amplification region was 452 bp. The gene turned out to be represented by two alleles and three genotypes. The AA genotype was characterized by 3 restriction sites and had 4 restriction fragments: 175 bp, 170 bp, 66 bp and 41 bp. The AB genotype had 4 restriction sites and 5 fragments: 236 bp, 175 bp, 170 bp, 66 bp, 41 bp. The BB genotype had 2 restriction sites and 3 sites: 236 bp, 175 bp, 41 bp. In both studied breeds, two allelic variants of the gene were identified with a slight predominance of the *BlgB* allele over *BlgA*: 0.594 versus 0.406 in AFF, and 0.538 versus 0.462 in AK. Three genotypes were identified: AA, BB and AB, which manifested themselves with a frequency of 12.5%, 31.25% and 56.25% in AFF, as well as 15.38%, 23.08% and 61.54% in AK, respectively. **Conclusions.** The beta-lactoglobulin gene, which was studied for the first time in the Askanian fine-wool and Askanian Karakul breeds sheep, turned out to be polymorphic. This will allow further research on the possible association of individual *Blg* genotypes with signs of dairy production. When determining the main population genetic parameters of the two studied sheep breeds, it was found that both populations by the *Blg* gene have sufficient heterozygosity with a certain actual excess of heterozygous genotypes for the maximum possible number of active alleles and, in general, are in a state of genetic equilibrium, as evidenced by low values of the indicator χ^2 .

Keywords: allele, genotype, DNA, PCR-RFLP method.
DOI: <https://doi.org/10.33694/2415-3958-2020-1-5-191-201>

УРОВЕНЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *Blg* У ОВЕЦ АСКАНИЙСКОЙ КАРАКУЛЬСКОЙ И АСКАНИЙСКОЙ ТОНКОРУННОЙ ПОРОД

К. В. Скрепец, кандидат сельскохозяйственных наук
ORCID ID: 0000-0002-8873-3801

Г. И. Рукавникова
ORCID 0000-0001-6009-6583

А. А. Яковчук
ORCID ID: 0000-0002-2141-8540

Институт животноводства степных районов имени М. Ф. Иванова
«Аскания-Нова» - Национальный научный селекционно-
генетический центр по овцеводству
ул. Соборная, 1, пгт. Аскания-Нова, Чаплинский р-н,
Херсонская обл., 75230, Украина
e-mail: ascitsr_priemnaya@ukr.net

Цель. Исследовать полиморфизм гена бета-лактоглобулина (*Blg*) у овец двух пород асканийской селекции. **Методы.** Выделение геномной ДНК овец асканийской тонкорунной (АТП, $n=16$) и асканийской каракульской пород (АКП, $n=26$) из цельной крови проводили с использованием набора ДНК Сорб-Б, придерживаясь рекомендаций производителя реагентов. Определение генотипов проводилось методом ПЦР-ПДРФ с использованием эндо нуклеазы рестрикции *RsaI* (GT/AC). Разделение продуктов рестрикции гена *Blg* осуществляли в 3% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Результат рестрикции визуализировали с использованием УФ-трансиллюминатора. Расчет проводили методами популяционной биометрии. **Результаты.** Установлен полиморфизм гена *Blg* у овец двух пород асканийской селекции. Длина участка амплификации гена *Blg* составила 452 п.н. Ген оказался представлен двумя аллелями и тремя генотипами. Генотип AA характеризовался 3 сайтами рестрикции и имел 4 рестрикционные фрагмента: 175 п.н., 170 п.н., 66 п.н. и 41 п.н. Генотип АВ имел 4 сайта рестрикции и 5 фрагментов: 236 п.н., 175 п.н., 170 п.н., 66 п.н., 41 п.н. Генотип ВВ имел 2 сайта рестрикции и 3 участка: 236 п.н., 175 п.н., 41 п.н. В обеих исследованных породах определены два аллельные варианта гена с небольшим преобладанием аллеля *BlgB* над *BlgA*: 0,594 против 0,406 у АТП, и 0,538 против 0,462 у АКП. Выявлены три генотипа: AA, ВВ и АВ, которые проявлялись с частотой 12,5%, 31,25% и 56,25% у АТП, а также 15,38%, 23,08% и 61,54% у АКП соответственно. **Выводы.** Исследованный впервые у овец асканийской тонкорунной и асканийской каракульской породы ген бета-лактоглобулина оказался полиморфным. Это позволит в дальнейшем провести исследования относительно возможной связи отдельных генотипов *Blg* с признаками молочной продуктивности. При определении основных популяционно-генетических параметров двух исследованных пород овец установлено, что обе популяции по гену *Blg* имеют достаточную гетерозиготность с определенным фактическим избытком гетерозиготных генотипов максимально возможное количество действующих аллелей и, в целом, находятся в состоянии генетического равновесия, о чем свидетель-

ствують низкі значення показателя χ^2 .

Ключевые слова: аллель, генотип, ДНК, метод ПЦР-ПДРФ.
DOI: <https://doi.org/10.33694/2415-3958-2020-1-5-191-201>

Постановка проблеми. Всебічне вивчення геному сільськогосподарських тварин було і залишається предметом багаточисельних досліджень, що мають на меті виявлення особливостей генетичної структури, вивчення експресії генів, які, в свою чергу, відіграють ключову роль у формуванні або регуляції біохімічних та фізіологічних процесів, а, відтак і безпосередньо впливають на прояв господарсько-корисних ознак тварин. Встановлення кореляцій між генотипами визначених генів та окремими ознаками продуктивності вказує на те, що досліджувані гени мають прямий функціональний зв'язок з цими ознаками і цей факт дозволяє в подальшому здійснювати відбір тварин в бажаному напрямку. Одним із перспективних генів-кандидатів, що розглядається у якості маркера продуктивності овець, є ген бета-лактоглобуліну. З усіх специфічних генів, які можуть впливати на різні економічні характеристики у овець, локус Blg є найбільш дослідженим. Цей ген має підвищений поліморфізм у більшості порід овець [1]. Багато досліджень з різними породами овець вказують на те, що ген Blg є перспективним щодо впливу на кількість і якість молока [1, 2, 3, 4]. Зустрічаються повідомлення про зв'язок генотипів цього гену з живою масою і навіть з тониною вовни у овець [5]. При цьому його поліморфізм у овець асканійської селекції раніше не досліджувався.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Бета-лактоглобулін, що кодується геном Blg, складається з послідовності у 162 амінокислоти, синтезується секретуючими клітинами молочної залози [6]. Blg є основним сироваточним білком у молоці жуйних, складає приблизно від 17 до 22% від загальної кількості молочних білків [7]. Ген Blg розташований на 3 хромосомі вівці [8]. В екзоні 2 Blg виявлено три алельні варіанти (A, B та C), що пов'язані з амінокислотними замінами. Алелі A та B (Tyr\His) відрізняються в положенні амінокислоти 20 [1, 2, 3]. Генетичний варіант C відрізняється від варіанту A амінокислотою заміною в положенні 148 (Arg\Gln) (GenBank X12817). Найбільш розповсюдженими генетичними варіантами у всіх досліджених породах овець виявилися A та B, тоді як варіант C вважається рідкісним і зустрічається з низькими частотами в породах Carranzana, Black Merino, White Merino та Merinoland [6]. Зустрічаємо дослідження, що демонструють поліморфний вплив гену Blg на такі компоненти молока як надій, вміст білку, жиру, лактози [4, 9, 10], а також на якість та сиропридатність молока [1].

Мета статті. Встановити особливості генетичної структури за геном Blg у овець таврійського типу асканійської тонкорунної породи та асканійського породного типу багатоплідних каракульських овець ДП «ДГ ІТСП «Асканія-Нова» - ННСГЦВ».

Матеріали та методика досліджень. Дослідження поліморфізму гену Blg проведено у лабораторії молекулярної генетики Інституту тваринництва степових районів імені М. Ф. Іванова «Асканія-Нова» на вівцематках таврійського типу асканійської тонкорунної породи (n=16) та асканійського породного типу багатоплідних каракульських овець (n=26) ДП «ДГ ІТСП «Асканія-Нова» - ННСГЦВ».

Визначення генотипу тварин проводилося методом ПЛР-ПДРФ. Геномну ДНК виділяли з цільної крові за стандартною методикою з використанням набору реагентів ДНК Сорб-Б (Амплісенс).

Для ампліфікації фрагмента гена β lg використовували наступні праймери:

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

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

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

Для рестрикції гена Blg використовувалася рестриктаза RsaI (GT/AC) [2, 3, 5]. Після розділення носії генотипу AA мали 3 сайти рестрикції та 4 рестрикційні фрагменти: 175 п.н., 170 п.н., 66 п.н. та 41 п.н. Генотип АВ характеризувався 4 сайтами рестрикції та 5 фрагментами: 236 п.н., 175 п.н., 170 п.н., 66 п.н., 41 п.н. Генотип ВВ мав 2 сайти рестрикції та 3 ділянки: 236 п.н., 175 п.н., 41 п.н.

Результати досліджень. Результати розділення продуктів рестрикції гена Blg рестриктазою RsaI у 3% агарозному гелі наведено на рисунку 1. Виявлено фрагменти довжиною 236, 175, 170, 66 та 41 п.н., що свідчить про наявність поліморфізму цього гену.

За результатами ПЛР-ПДРФ аналізу було встановлено генетичну структуру досліджених популяцій овець. При цьому виявлено три генотипи (Blg AA, Blg AB, Blg BB), утворені двома алелями (табл.1). Так, визначено, що в середовищі обох порід найбільшу частку склали тварини - носії гетерозиготного генотипу Blg AB, це 56,25% в середовищі тварин асканійської тонкорунної та 61,54% – в асканійській каракульській породі. Наступним за розподілом в обох породах виявився гомозиготний генотип Blg BB – 31,25% в АТП та

23,08% в АКП. Рідше всього зустрічався гомозиготний варіант Blg AA (12,5% та 15,38% відповідно).



Доріжки: 1 ДНК-маркер (Сібензим pUC19 DNA/MspI (HpaII) Marker 23 (501, 404, 331, 242, 190, 147, 111); 2 – ПЛР продукт (452 п.н.); 3, 4, 8, 9, 11 - генотип BB (236 п.н., 175 п.н., 41 п.н.); 5, 6, 7, 12 - генотип AB (236 п.н., 175 п.н., 170 п.н., 66 п.н., 41 п.н.); 10, 13 - генотип AA (175 п.н., 170 п.н., 66 п.н. та 41 п.н.)

Рис. 1. Електрофореграма розділення продуктів рестрикції гена Blg рестриктазою RsaI

Таблиця 1. Концентрація генотипів та алелів локусу BLg в досліджених породах овець

Генотип/алель	АТП		АКП	
	п	%	п	%
AA	2	12,5	4	15,38
AB	9	56,25	16	61,54
BB	5	31,25	6	23,08
Разом	16	100	26	100
A	0,406		0,462	
B	0,594		0,538	

За алельним складом найбільш розповсюдженим виявився Blg B, як серед тварин АТП (0,594), так і в середовищі АКП (0,538). Альтернативний йому Blg A зустрічався дещо з меншою частотою: 0,406 та 0,462 відповідно. Аналогічні результати були отримані Khaleel Jawasreh at all. (2019) при дослідженні цього локусу у овець породи авассі (n=928), яких розводять в Йорданії. Так, в популяції встановлено алелі A та B з частотою 0,42 та 0,58, при цьому частоти генотипів Blg AA, Blg AB та Blg BB розподілялися в цій породі наступним чином: 0,17, 0,51 та 0,32 [3].

Інші автори у своїх дослідженнях вказують на високу частоту алелю Blg A [2, 11]. Так Amir Mohammadi at all. (2006), досліджуючи

овець 9 іранських та російських порід (n=391) встановив, що у овець порід іранський каракуль (Iranian Karakul), російський каракуль (Russian Karakul), Finnish Landrace та Cross частота цього алелю становила 0,89, 0,72, 0,86 та 0,84 відповідно. У всіх досліджених породах найпоширенішим виявився генотип Blg AB [2]. G. Elyasi et al. (2010) [11] також відмічають підвищену порівняно з іншими породами частоту алелю Blg A в таких іранських породах овець, як Ghezel (0,56) та Makoi (0,53), щодо генотипового складу, то і ці автори повідомляють про переважну більшість гетерозигот Blg AB.

Більш точну уяву про особливості структури популяцій за генетичними маркерами дає комплексне вивчення із застосуванням декількох методів, кожен з яких має свою специфіку у з'ясуванні генетичної мінливості популяції [12]. Результати комплексної оцінки генетичних структур досліджених груп за локусом Blg представлені у таблиці 2.

Таблиця 2. Популяційно-генетичні параметри досліджених популяцій за локусом Blg

Порода	Розподіл	Показники зиготності			Популяційно-генетичні параметри				
		Гомо-зигот, n	Гетеро-зигот, n	H	Ca	V	Na	D	χ^2
АТП	ф	7	9	0,48	0,52	51,4	1,93	+0,37	0,78
	т	8,3	7,7	0,35					
АКП	ф	10	16	0,50	0,50	51,7	1,99	+0,71	1,77
	т	13	13	0,29					

Так, коефіцієнт гетерозиготності в обох досліджених породах склав 0,48 (АТП) та 0,5 (АКП), що свідчить про достатню кількість гетерозиготних генотипів в популяціях. Звідси і коефіцієнт гомозиготності (Ca) в обох групах був у межах 0,5-0,52.

Рівень поліморфності локусу (Na) являє собою число діючих ефективних алелів у популяції. Збільшення ступеню гомозиготності супроводжується зменшенням числа ефективних алелів, зниженням geno- та фенотипового різноманіття, що веде до зростання однорідності популяції. Максимальна теоретично можлива кількість діючих алелів при двоалельному стані локусу дорівнює двом. В

обох досліджених групах Na складала 1,93-1,99, що свідчить про рівну дію алелів гену Blg.

Коефіцієнт ексцесу (D) кількісно оцінює нестачу або надлишок фактичної гетерозиготності популяції порівняно з теоретично обрхованою. Характер величини даного показника в обох досліджених групах має однакове – правостороннє відхилення, що вказує на певний надлишок фактичних гетерозиготних генотипів.

При порівнянні теоретично очікуваного та фактичного розподілу генотипів локусу Blg за Харді-Вайнбергом в обох популяціях не встановлено порушення генетичної рівноваги, про що свідчать низькі показники χ^2 .

Кожен алельний ген виконує в організмі певну функцію, яка через генетичний гомеостаз впливає на синтез білкових продуктів і в кінцевому результаті визначає величину і якість продуктивної чи фізіологічної ознаки. Тож, опираючись на досвід інших дослідників, окрім використання явища поліморфізму гену Blg в популяційно-генетичних дослідженнях, є також доцільним вивчити можливість впливу різних генотипів бета-лактоглобуліну на ознаки продуктивності овець, про що буде повідомлено в наступних публікаціях.

Висновки. Ген Blg в популяціях таврійського типу асканійської тонкорунної породи та асканійського породного типу багатоплідних каракульських овець ДПДГ «Асканія-Нова» виявився поліморфним. При цьому визначено два алелі та три утворені цими алелями генотипи. В обох популяціях з дещо більшою частотою зустрічається алель Blg B (0,594 в АТП та 0,538 в АКП). Найбільш розповсюдженим генотипом виявився гетерозиготний Blg AB, що зустрічався з концентрацією 56,25% в АТП та 61,54% в АКП.

При визначенні основних популяційно-генетичних параметрів двох досліджених порід овець встановлено, що обидві популяції за геном Blg мають достатню гетерозиготність з невеликим фактичним надлишком гетерозиготних генотипів, максимально можливу кількість діючих алелів, та, в цілому, знаходяться в стані генетичної рівноваги, про що свідчать низькі значення показника χ^2 .

Ген Blg є геном-кандидатом, пов'язаним із показниками молочної продуктивності тварин. Тож в майбутньому буде проведено дослідження із пошуку можливого зв'язку окремих генотипів даного гену з проявом основних ознак молочної продуктивності тварин.

Список використаної літератури

1. S.E. Georgescu, Nicoleta Isfan, Steliana Maria, Elvira Kevorkian, Mariana Rebedea, Marieta Costache. The correlation of production characteristics with

the genetic variants of the encoding locus of β -lactoglobulin in tree sheep breeds from Romania / *Archiva Zootechnica*. 14:1, 41 – 49, 2011.

2. Amir Mohammadi, Mohammad Reza Nassiry, Ghorban Elyasi, Jalil Shodja Genetic Polymorphism of b-Lactoglobulin in Certain Iranian and Russian Sheep Breeds / *Iranian Journal of Biotechnology* Volume 4 Issue 4 Autumn 2006 Pages 265 – 268.

3. Khaleel Jawasreh, Ahmad Al Amareen, Pauline Aad. Effect and interaction of β -Lactoglobulin, Kappa Casein, and Prolactin genes on milk production and Composition of Awassi Sheep Animals (Basel). 2019 Jun; 9(6): 382.

Doi:10.3390 / ani9060382

4. Gras M.A., * Ph.D., Pistol G.C., Ph.D., Pelmus R.S., Ph.D., Lazar C, Ph.D., Grosu H, Ph.D., Ghita E, Ph.D Relationship between gene polymorphism and milk production traits in Teleorman Black Head sheep breed

Rev.MVZ Cordoba vol.21 no.1 Córdoba Jan./Apr. 2016, 5124 – 5136.

5. Бочкарев В. В. Молекулярно-генетический анализ локуса β -лактоглобулина у овец различных полутонкорунных пород : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.23 – биотехнология. Дубровицы, 1998. 20 с.

6. Selvaggi. M., Laudadio. V., Dario C., Tufarelli V. β -Lactoglobulin gene polymorphisms in sheep and effects on milk production traits: A review. *Adv.Anim.Vet. Sci.* 2015, 3, 478 – 484. [Cross Ref]

7. Padilla P., Izquierdo M., Martinez-Trancon M., Parejo J. C., Rabasco A., Salazar J., Padilla J. A polymorphisms of α -Lactoglobulin, β -Lactoglobulin and prolactin genes are highly associated with milk composition traits in Spanish Merino sheep. *Livest. Sci.* 2018, 217, 26 – 29 . [Cross Ref]

8. Erhardt G. Evidence for a third allele at the β -Lactoglobulin (β -Lg) locus of sheep milk and its occurrence in different breeds. *Anim. Genet.* 1989, 20, 197-204. [Cross Ref]

9. Moioli B., D'Andrea M., Pilla F. Candidate genes affecting sheep and goat milk quality. *Small Rumin. Res.* 2007,68, 179 – 192.

10. Triantaphyllopoulos K., Koutsouli P., Kandris A., Papachristou D., Markopouliou K., Mataragka A., Massouras T., Bizelis I. Effect of β -Lactoglobulin gene polymorphism lactation stage and breed on milk traits in Chios and Karagouniko sheep breed. *Ann. Anim. Sci.* 2017, 17, 371 – 384 [Cross Ref].

11. G. Elyasi, J. Shodja, M. R. Nassiry, A. Tahmasebi, O. Pirahary and A. Javanmard Polymorphism of β -Lactoglobulin Gene in Iranian Sheep Breeds Using PCR-RFLP. *Journal of Molecular Genetics* 2(1):6-9, 2010 6 – 9. (праймери

12. Животовський Л. А. Популяційна біометрія. Москва : Наука, 1991. 271 с.

References

1. S.E. Georgescu, Nicoleta Isfan, Steliana Maria, Elvira Kevorkian, Mariana Rebedea, Marieta Costache. The correlation of production characteristics with the genetic variants of the encoding locus of β -lactoglobulin in tree sheep breeds from Romania / *Archiva Zootechnica*. 14:1, 41 – 49, 2011.

2. Amir Mohammadi, Mohammad Reza Nassiry, Ghorban Elyasi, Jalil Shodja Genetic Polymorphism of b-Lactoglobulin in Certain Iranian and Rus-

sian Sheep Breeds / Iranian Journal of Biotechnology Volume 4 Issue 4 Autumn 2006 Pages 265 – 268.

3. Khaleel Jawasreh, Ahmad Al Amareen, Pauline Aad. Effect and interaction of β -Lactoglobulin, Kappa Casein, and Prolactin genes on milk production and Composition of Awassi Sheep *Animals (Basel)*. 2019 Jun; 9(6): 382.

4. Gras M.A., * Ph.D., Pistol G.C., Ph.D., Pelmus R.S., Ph.D., Lazar C, Ph.D., Grosu H, Ph.D., Ghita E, Ph.D Relationship between gene polymorphism and milk production traits in Teleorman Black Head sheep breed

Rev.MVZ Cordoba vol.21 no.1 Córdoba Jan./Apr. 2016, 5124 – 5136.

5. Bochkarev, V. V. (1998). Molekulyarno-geneticheskiy analiz lokusa β -laktoglobulina u ovets razlichnykh polutonkorunnykh porod [Molecular genetic analysis of the β -lactoglobulin locus in sheep of various semi fine-fleeced breeds]. *Extended abstract of candidate's thesis*. Dubrovitsy [in Russian].

6. Selvaggi. M., Laudadio. V., Dario C., Tufarelli V. β -Lactoglobulin gene polymorphisms in sheep and effects on milk production traits: A review. *Adv.Anim.Vet. Sci.* 2015, 3, 478 – 484. [Cross Ref]

7. Padilla P., Izquierdo M., Martinez-Trancon M., Parejo J. C., Rabasco A., Salazar J., Padilla J. A polymorphisms of α -Lactoglobulin, β -Lactoglobulin and prolactin genes are highly associated with milk composition traits in Spanish Merino sheep. *Livest. Sci.* 2018, 217, 26 – 29 [Cross Ref]

8. Erhardt G. Evidence for a third allele at the β -Lactoglobulin (β -Lg) locus of sheep milk and its occurrence in different breeds. *Anim. Genet.* 1989, 20, 197-204. [Cross Ref]

9. Moioli B., D'Andrea M., Pilla F. Candidate genes affecting sheep and goat milk quality. *Small Rumin. Res.* 2007, 68, 179 – 192.

10. Triantaphyllopoulos K., Koutsouli P., Kandris A., Papachristou D., Markopouliou K., Mataragka A., Massouras T., Bizelis I. Effect of β -Lactoglobulin gene polymorphism lactation stage and breed on milk traits in Chios and Karagouniko sheep breed. *Ann. Anim. Sci.* 2017, 17, 371 – 384 [Cross Ref].

11. G. Elyasi, J. Shodja, M. R. Nassiry, A. Tahmasebi, O. Pirahary and A. Javanmard Polymorphism of β -Lactoglobulin Gene in Iranian Sheep Breeds Using PCR-RFLP. *Journal of Molecular Genetics* 2(1):6-9, 2010 6 – 9. (primers).

12. Zhivotovskiy, L. A. (1991). Populyatsiyana biometriya [Population biometrics]. Moscow: Nauka [in Russian].