MINISTERUL AGRICULTURII ŞI DEZVOLTĂRII RURALE

PLANUL SECTORIAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE 2023-2026

TITLUL PROIECTULUI ADER 713

Cercetari cu privire la evaluarea polimorfismului unor regiuni genomice cu posibile implicaţii în calitatea laptelui şi în determinismul genetic al unor maladii ereditare la rasele de caprine Carpatina și Alba de Banat

Raport de cercetare al FAZEI II

Genotiparea caprinelor la locii CSN1S1 si PRNP si evaluarea compozitiei laptelui pe genotipuri de la locusul CSN1S1

Perioada de derulare a FAZEI II: 01.11.2023-31.03.2025

Conducător proiect: SCDCOC CARANSEBEŞ

SCDCOC CARANSEBEŞ

1. Evaluarea polimorfismului genei alfa s1 cazeinei la caprine din rasa Alba de Banat

Scopul cercetarilor efectuate a fost genotiparea unor caprine din rasa Alba de Banat in vederea determinarii frecventei alelelor cu expresie puternica (A si B) si defective (F) si a genotipurilor de la locusul alfa s1 cazeinei (Figura 1).



Figura 1. Procedura de recoltare a probelor biologice de la caprinele luate in studiu din ferma SCDCOC Caransebes

Procedura de genotipare a caprinelor la locusul alfa s1 cazeinei

- Analiza genetica a constat in purificarea ADN din probele de sange, urmata de amplificarea unor regiuni regiune codificatoare din gena alfa s1 cazeinei, care conține mutatii ce diferențiaza alelele A si B de F si genotipurile de la acest locus;

- Stabilirea genotipurilor a fost realizata prin digestia probelor amplificate cu ajutorul unei enzima de restricție, urmata de analiza produsilor de restrictie in gel de agaroza.

Rezultate obtinute

- Analiza profilelor electroforetice rezultate prin digestia produsilor de amplificare obtinuti din gena alfa s1 cazeinei a evidentiat prezenta mai multor genotipuri (Figura 2)

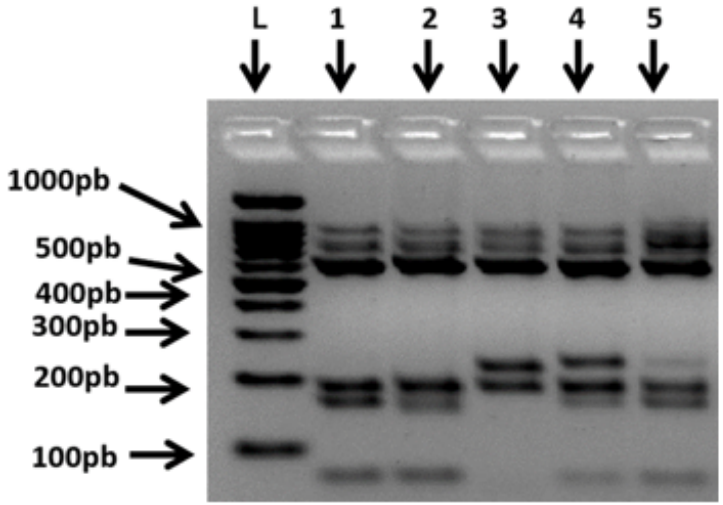


Figura 2. Produsi de restrictie obtinuti prin digestia fragmentelor amplificate din gena alfa s1 cazeinei la caprine, evidentiind prezenta mai multor genotipuri: probele 1-5; L-ladder ADN

- In probele 1, 2 se evidentiaza prezenta a patru fragmente de marimi diferite corespunzatoare genotipurilor homozigote formate din alele cu expresie puternica de tip A (A si B);

- In proba 3 sunt prezente trei fragmente de restrictie specifice prezentei alelei cu expresie slaba F si a genotipului homozigot de tip FF;

- In probele 4 si 5 sunt evidentiate cinci fragmente de restrictie specifice alelelor F si de tip A, respectiv a genotipurilor heterozigote AF si BF (Figura 2).

- Pe baza datelor de genotipare au fost calculate frecvențele alelelor și genotipurilor in populatia de caprine genotipata din cadrul SCDCOC Caransebes (Tabelul 1).

Locus	CSN1S1	
Frecventa genotipurilor	AA, AB si BB	0,55
	AF/BF	0,26
	FF	0,19
Frecventa alelelor	A, B	0,68
	F	0,32

Tabelul 1. Frecvențele alelelor și genotipurilor la locusul alfa s1 cazeinei (CSN1S1) la caprine din rasa Alba de Banat

- Alelele cu expresie puternica (A și B) de la locusul alfa s1 cazeinei au avut o frecventa mare de 0,68. Cu toate acestea frecventa alelei defectiva F a fost destul de ridicata (0,32).

- Frecventa cumulata mare a genotipurilor care contin cel putin o alela defectiva de tip F (AF, BF si FF) de 0,45 are o semnificație negativa, deoarece prezenta alelei F a fost asociata la multe rase de caprine cu un lapte slab calitativ privitor la continutul de cazeina coagulabila. Acest lucru poate afecta semnificativ si randamentului de transformare al laptelui in branzeturi la rasa Alba de Banat.

2. Evaluarea compozitiei laptelui si a randamentului de transformare in branzeturi pe genotipuri de la locusul alfa s1 cazeinei la caprine din rasa Alba de Banat

Scopul cercetarilor efectuate a fost evaluarea influentei unor genotipuri de la locusul alfa s1 cazeinei asupra compozitiei si a randamentului de transformare al laptelui in branzeturi la caprine din rasa Alba de Banat (Figura 3).



Figura 3. Recoltarea probelor de lapte de la caprine pentru realizarea analizele fizico-chimice si determinarea randamentului de transfomare in branzeturi

Procedura de evaluare a compozitiei laptelui de capra pe genotipuri

- Pentru realizarea analizelor fizico-chimice (grăsime, proteina totală, cazeină, lactoza, substanța uscata negrasa si substanța uscata totala) probele de lapte au fost recoltate individual de doua ori pe lactatia din 2024, pe genotipuri de la locusul alfa s1 cazeinei: grupa I (AA, BB, AB), grupa II (AF, BF) si grupa III (FF).

- Pentru determinarea randamentului de obtinere al branzeturilor, laptele muls de la fiecare individ cu genotipuri similare a fost amestecat. Din cantitatea de lapte amestec rezultata cazeina a fost precipitata prin adaos de cheag.

Rezultate obtinute

- Analiza datelor experimentale obtinute privind calitatea laptelui (parametrii fizico-chimici) in relatie cu genotipurile analizate: grupa I (AA, BB, AB), grupa II (AF, BF) si grupa III (FF) sunt evidentiate in Tabelul 3.

Tabelul 3. Diferentele constatate intre genotipurile de la locusul alfa s1 cazeinei privind compozitia laptelui la rasa Alba de Banat

Genotip CSN1S1	Grasime (g/100g)	Proteina totala (g/100g)	Cazeina (g/100g)	Lactoza (g/100g)	Subst. usc. negrasa (g/100g)	Subst. usc. totala (g/100g)
AA, BB, AB	3,98	3,65	2,68	4,06	8,51	12,52
AF, BF	2,91	3,03	2,23	4,24	8,09	11,04
FF	2,54	2,61	1,89	4,24	7,66	10,23

- Cea mai mare diferenta privind continutul de cazeina coagulabila s-a constatat intre genotipurile din grupa I (AA, BB, AB), respectiv cele din grupa III (FF) (Tabelul 3). Continutul de cazeina din lapte a avut o influenta directa si asupra procentului de proteina totala si a celui de substanta uscata negrasa si substanta uscata totala. Pentru acesti trei parametrii s-a constatat o superioritate a genotipurilor din grupa I (AA, BB, AB), in comparatie cu genotipurile din grupa II (AF, BF), respectiv grupa III (FF) (Tabelul 3). Continutul de lactoza a avut valori apropiate la cele trei grupe de genotipuri analizate.

Rezultate obtinute

- Analiza datelor experimentale obtinute privind randamentul de transformare al laptelui in branzeturi (cantitatea de branza) la rasa Alba de Banat, a evidentiat diferente intre genotipuri;

- Cea mai mare diferenta cantitativa a fost evidentiata intre genotipurile din grupa I (AA, BB, AB) *versus* cele din grupa III (FF) de 0,122 kg / 2,5 l de lapte prelucrat pe genotip. Aceasta diferenta raportata la o cantitate de 100 de litri de lapte evidentiaza o diferenta de 4,88 kg de branza intre genotipuri, ceea ce poate reprezenta o pierdere semnificativa.

- O diferenta mai mica s-a constatat si intre genotipurile din grupa I (AA, BB, AB) *versus* cele din grupa III (AF, BF) de 0,042 kg / 2,5 l de lapte, respectiv intre genotipurile din grupa II (AF, BF) *versus* cele din grupa III (FF) de 0,08 kg / 2,5 l de lapte. Aceaste diferente raportate la o cantitate de 100 de litri de lapte evidentiaza o diferenta de 1,68 , respectiv 3,20 kg de branza intre genotipuri.

CONCLUZII

- Prezenta alelei defective de tip F in genotipurile homozigote FF, respectiv heterozigote AF si BF a influentat procentul de cazeina coagulabila si implicit si cantitatea de branza obtinuta pe litrul de lapte la rasa Alba de Banat.

3. Evaluarea polimorfismului genei PRNP la caprine din rasele Carpatina si Alba de Banat

Scopul cercetarilor efectuate a fost evaluarea polimorfismului la locusul PRNP la caprine din rasele Carpatina si Alba de Banat, asociat la alte rase de caprine cu rezistenta sau susceptibilitatea la scrapie.

Procedura de genotipare a caprinelor la locusul PRNP

- Scrapia poate provoca pierderi economice mari pentru crescatori, mai ales in cazul ovinelor. Metoda de genotipare a constat in analiza prin secventiere a polimorfismului exonului 3 din gena PRNP, care a fost asociat cu rezistenta sau susceptibilitatea la scrapie a caprinelor;

Rezultate obtinute

- Analiza secventelor obtinute de la caprinele analizate a evidentiat prezenta in cei trei codoni 136, 154 și 171 a unor mutatii specifice alelei ARQ de la locusul PRNP, prezenta si la ovine. Toate caprinele analizate au prezentat genotipul ARQ/ARQ, care la ovine este clasificat in grupa de risc 3 si este asociat cu o rezistenta scazuta la scrapie;

- Evaluarea codonilor 146 si 222 la caprinele analizate din rasele Carpatina si Alba de Banat au evidentiat lipsa alelelor K222, D146 si S146 care confera rezistenta genetica crescuta la scrapie (Figura 4).

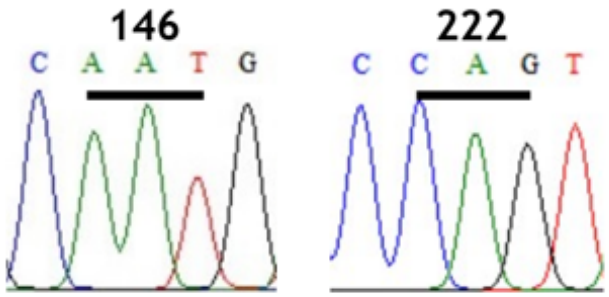


Figura 4. Cromatograme de secvenţiere evidenţiind codonii 146 si 222 din gena PRNP la caprinele analizate din rasele Carpatina si Alba de Banat

CONCLUZII

- Analiza polimorfismului genei PRNP la caprine din rasele Carpatina si Alba de Banat au evidentiat la toate animale aceleasi polimorfisme in codonii 136, 154 şi 171 specifice alelei ARQ, prezenta si la ovine. Aceasta alela a fost in identificata in linkage cu alte doua mutatii in codonii 146 (Asn) si 222 (Gln), care au fost asociate cu rezistenta scazuta a caprinelor la scrapie (Figura 4). Alelele K222, D146 si S146, care confera rezistenta genetica crescuta la scrapie a caprinelor nu au fost identificate la indivizii analizati.