

КОМПЛЕКСНОЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ CSN3 И DGAT1 НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ ЧЕРНО-ПЕСТРОГО СКОТА

Шайдуллин Радик Рафаилович, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, заведующий кафедрой «Биотехнология, животноводство и химия»

Ганиев Алмаз Саляхутдинович, соискатель кафедры «Биотехнология, животноводство и химия»
ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет»
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 65, тел. (843) 236-65-22
e-mail: tppi-kgau@bk.ru

Ключевые слова: генотип, CSN3, DGAT1, коровы, удои, белок, жир.

В настоящее время наибольший интерес с точки зрения селекции представляют гены маркеры молочной продуктивности, такие как ген каппа-казеина и диацилглицерол О-ацилтрансферазы. Целью исследования явилось изучение частоты встречаемости комплексных генотипов CSN3 / DGAT1 и их влияние на молочную продуктивность коров. Объектом исследования служили первотелки и высокопродуктивные коровы черно-пестрой породы, принадлежащие ООО «Дусым» Атнинского района Республики Татарстан. Было проведено генотипирование коров по генам CSN3 и DGAT1 методом ДНК-диагностики. Обнаружено у черно-пестрого скота 9 комплексных генотипов, из которых наиболее часто встречались: CSN3 AA / DGAT1 AA (16,2-37,0%), CSN3 AA / DGAT1 AK (15,9-43,7%), CSN3 AB / DGAT1 AK (13,4-31,2%). Первотелки с генотипом CSN3 AB / DGAT1 AK превосходили животных с генотипом CSN3 AA / DGAT1 AA, CSN3 AA / DGAT1 AK, CSN3 AA / DGAT1 KK, CSN3 AB / DGAT1 AA, CSN3 AB / DGAT1 KK по удою на 490-884 кг ($P < 0,05-0,001$), по массовой доле жира на 20,8-32,2 кг ($P < 0,05-0,001$), по массовой доле белка на 16,4-26,8 кг ($P < 0,05-0,001$). Среди высокопродуктивных коров преимущество по молочной продуктивности имели особи с генотипом CSN3 BB / DGAT1 AA и CSN3 BB / DGAT1 AK кг ($P < 0,05-0,001$). Исследования показали, что наибольшей молочной продуктивностью обладали животные с генотипом CSN3 BB / DGAT1 AA и CSN3 BB / DGAT1 AK, как в группе первотелок, так и в группе высокопродуктивных коров.

Введение

Открытие наследственного полиморфизма белков, ферментов у разных видов сельскохозяйственных животных явилось сильным стимулом для изучения генетических особенностей пород и возможностей использования маркерных генов в практической селекции. К настоящему времени, благодаря быстрому внедрению ДНК-технологий, общее число определяемых у животных маркерных генов уже достигло нескольких десятков, что позволяет надежно контролировать значительную часть ее генома [1, 2].

Гены молока являются высоко полиморфными и существуют в нескольких аллельных вариантах. Много исследований было посвящено изучению связи полиморфных систем генов молока с молочной продуктивностью [3-7].

Ген белка каппа-казеина связан с признаками белкомолочности и технологических свойств молока. Структура каппа-казеина контролируется одним полиморфным геном, расположенным в 6 хромосоме генома крупного рогатого скота [8].

Ген диацилглицерол О-ацилтрансферазы (DGAT1) локализован на 14 хромосоме генома крупного рогатого скота и определен как генетический маркер, влияющий на качество молока. Данный ген DGAT1 используется в биосинтезе липидов и связан с жирномолочностью коров [9].

В настоящее время возрастают требования рынка к качеству молока и молочной продукции, в частности, к содержанию жира, количеству и составу молочного белка, а также использованию жира и белка молока при выработке молочных продуктов. Существует необходимость в выявлении и использовании в селекции генетических маркеров, связанных с качественными признаками молочной продуктивности. В связи с этим наибольший интерес с точки зрения селекции представляют гены маркеры молочной продуктивности, такие как ген каппа-казеина (CSN3) и диацилглицерол О-ацилтрансферазы (DGAT1) [10, 11].

Цель исследования – изучение частоты встречаемости комплексных генотипов одновременно по двум генам - каппа-казеина и диацилглицерол О-ацилтрансферазы и их влияние на молочную продуктивность коров.

Объекты и методы исследований

Для определения полиморфизма генов каппа-казеина (CSN3) и диацилглицерол О-ацилтрансферазы (DGAT1), оценки молочной продуктивности у животных с разными генотипами CSN3 и DGAT1 было отобрано в племенном репродукторе ООО «Дусым» Атнинского района Республики Татарстан 142 коров-первотелок, 208 высокопродуктивных коров от которых были взяты пробы крови и выделены препараты ДНК.

Таблица 1

Частота встречаемости комбинаций генотипов каппа-казеина и диацилглицерол О-ацилтрансферазы у первотелок и высокопродуктивных коров

Генотип по генам CSN3 / DGAT1	Частота комбинации генотипов			
	у коров-первотелок		у высокопродуктивных коров	
	n	%	n	%
AA/AA	23	16,2	77	37,0
AA/АК	62	43,7	33	15,9
AA/КК	4	2,8	5	2,4
AB/AA	24	16,9	11	5,3
AB/АК	19	13,4	65	31,2
AB/КК	3	2,1	8	3,8
BB/AA	3	2,1	1	0,5
BB/АК	4	2,8	7	3,4
BB/КК	0	-	1	0,5

Материалом для ДНК-тестирования служила венозная кровь животных. От каждой пробы крови была выделена ДНК с помощью набора «Магносорб» (Интерлабсервис, Москва) согласно инструкции производителя. Применяли ПЦР смесь следующего состава: пару праймеров для амплификации участка исследуемого гена, смесь нуклеозид трифосфатов (2,5мМ), хлорид магния (25мМ), 10-кратный буфер для проведения ПЦР, Taq полимеразу.

Для амплификации фрагментов генов CSN3 и DGAT1 использовали пары олигонуклеотидных праймеров, синтезированные ЗАО «Синтол» (Москва, Россия). Амплификацию с праймерами проводили на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Москва) по общепринятой методике.

Полученные ампликоны подвергали рестрикции при помощи рестриктаз *Hinf I* (ген CSN3) и *Eae I* (ген DGAT1) (СибЭнзим, Россия) согласно рекомендациям производителя. После гидролиза фрагменты ампликонов подвергали горизонтальному электрофорезу в 2,5-% агарозном геле.

Результаты исследований

В исследованной группе коров-первотелок выявлено 8 комплексных генотипов (табл. 1). Наиболее часто встречаются генотипы CSN3 AA / DGAT1 АК (43,7 %), CSN3 AB / DGAT1 AA (16,9 %), CSN3 AA / DGAT1 AA (16,2 %), CSN3 AB / DGAT1 АК (13,4 %). Остальная часть четырех генотипов не превышала 2,8 % и суммарная их часть составила 9,8 %. Комбинация CSN3 BB / DGAT1 КК в стаде первотелок не выявлена.

В высокопродуктивном стаде обнаружено 9 комплексных генотипов. При этом часто встречаются аналогичные комбинации генотипов, как и у первотелок - CSN3 AA / DGAT1 AA (37,0 %), CSN3 AB / DGAT1 АК (31,2 %), CSN3 AA / DGAT1 АК (15,9 %). Меньшую часть занимают комбинации CSN3 BB /

DGAT1 AA и CSN3 BB / DGAT1 КК (по 0,5 %).

Таким образом, в молочном стаде хозяйства преобладают 3 генотипа CSN3 AA / DGAT1 AA, CSN3 AA / DGAT1 АК, CSN3 AB / DGAT1 АК с частотой 16,2-37,0 %, 15,9-43,7 %, 13,4-31,2 % соответственно. Наиболее редкими, с частотой менее 2,1 %, оказались гомозиготные генотипы CSN3 BB / DGAT1 AA и CSN3 BB / DGAT1 КК.

Для комплексных генотипов CSN3 / DGAT1 у первотелок и высокопродуктивных коров были определены показатели молочной продуктивности: удои за 305 дней лактации, показатели жирномолочности и белковомолочности.

В стаде первотелок наилучшие показатели были отмечены у генотипа CSN3 AB / DGAT1 АК по удою (5012 кг), массовой доли жира (184,9 кг) и массовой доли белка (157,9 кг) (табл. 2). Достоверная разница по удою выявлена между комбинациями генотипов AB/АК и AA/AA – 782 кг (P<0,001), AB/АК и AA/АК – 490 кг (P<0,05), AB/АК и AA/КК – 746 кг (P<0,01), AB/АК и AB/AA – 593 кг (P<0,05), AB/АК и AB/КК – 884 кг (P<0,001), соответственно по массовой доле жира: 32,2 кг (P<0,001), 20,8 кг (P<0,01), 22,4 кг (P<0,05), 24,0 кг (P<0,01), 29,3 кг (P<0,001) и массовой доле белка: 26,8 кг (P<0,001), 16,4 кг (P<0,01), 21,4 кг (P<0,01), 19,6 кг (P<0,05), 26,2 кг (P<0,001).

Более высокое содержание жира в молоке наблюдается у первотелок с комбинацией генотипов CSN3 AA / DGAT1 КК (3,81 %), при этом достоверно превосходили генотипы AA/AA на 0,2 % (P<0,01), AA/АК на - 0,18 % (P<0,01), AB/AA на - 0,17 % (P<0,05), BB/AA на - 0,23 % (P<0,05).

По содержанию белка в молоке комплексный генотип CSN3 BB / DGAT1 АК имел преимущество (3,28 %) и достоверно превышал по этому показателю генотипы AA/AA на 0,18 % (P<0,001), AA/АК на - 0,15 % (P<0,001), AA/КК на - 0,10 % (P<0,01),

Таблица 2

Молочная продуктивность коров-первотелок с разными комбинациями генотипов каппа-казеина и диацилглицерол О-ацилтрансферазы

Генотип по генам CSN3 / DGAT1	Удой, кг	Жир		Белок	
		%	кг	%	кг
AA/AA	4230 ± 69	3,61 ± 0,02	152,7 ± 2,4	3,10 ± 0,01	131,1 ± 2,0
AA/АК	4522 ± 58	3,63 ± 0,01	164,1 ± 2,0	3,13 ± 0,01	141,5 ± 1,7
AA/КК	4266 ± 93	3,81 ± 0,06	162,5 ± 4,9	3,20 ± 0,02	136,5 ± 3,4
AB/AA	4419 ± 156	3,64 ± 0,02	160,9 ± 5,5	3,13 ± 0,01	138,3 ± 4,9
AB/АК	5012 ± 192	3,69 ± 0,03	184,9 ± 6,9	3,15 ± 0,01	157,9 ± 6,0
AB/КК	4128 ± 65	3,77 ± 0,04	155,6 ± 2,1	3,19 ± 0,01	131,7 ± 1,8
BB/AA	4877 ± 234	3,58 ± 0,02	174,6 ± 9,1	3,23 ± 0,03	157,5 ± 8,9
BB/АК	4626 ± 310	3,72 ± 0,04	172,1 ± 10,2	3,28 ± 0,02	151,7 ± 9,4

Таблица 3

Молочная продуктивность высокопродуктивных коров с разными комбинациями генотипов каппа-казеина и диацилглицерол О-ацилтрансферазы

Генотип по генам CSN3 / DGAT1	Удой, кг	Жир		Белок	
		%	кг	%	кг
AA/AA	6193 ± 79	3,62 ± 0,01	224,2 ± 2,8	3,11 ± 0,01	192,6 ± 2,5
AA/АК	6020 ± 109	3,56 ± 0,02	214,3 ± 4,0	3,08 ± 0,01	185,4 ± 3,5
AA/КК	5787 ± 162	3,71 ± 0,07	214,7 ± 3,6	3,08 ± 0,02	178,2 ± 5,5
AB/AA	5626 ± 106	3,71 ± 0,06	208,7 ± 3,7	3,15 ± 0,03	177,2 ± 3,5
AB/АК	6062 ± 61	3,68 ± 0,02	223,1 ± 2,3	3,14 ± 0,01	190,3 ± 2,1
AB/КК	5848 ± 149	3,87 ± 0,06	226,3 ± 6,4	3,19 ± 0,04	186,6 ± 6,4
BB/AA	6610	3,65	241,3	3,20	211,5
BB/АК	6205 ± 209	3,59 ± 0,04	222,8 ± 9,5	3,23 ± 0,04	200,4 ± 7,7
BB/КК	6122	3,66	224,1	3,13	191,6

AB/AA на – 0,15 % (P<0,001), AB/АК на – 0,14 (P<0,001), AB/КК на – 0,09 % (P<0,01).

Высокопродуктивные коровы с комбинацией генотипов CSN3 BB / DGAT1 AA и CSN3 BB / DGAT1 АК сохранили преимущество как по удою (6610 и 6205 кг), молочному жиру (241,3 и 222,8 кг), молочному белку (211,5 и 200,4 кг), так и по содержанию белка в молоке (3,20 и 3,23 %) (табл. 3). Также высокая молочная продуктивность отмечена у генотипов CSN3 AA / DGAT1 AA, соответственно: 6193 кг-224,2 кг-192,6 кг. При этом достоверная разница по удою выявлена по сравнению с животными с комбинацией генотипов CSN3 AA / DGAT1 КК (406 кг, P<0,05), CSN3 AB / DGAT1 AA (576 кг, (P<0,001), CSN3 AB / DGAT1 КК (345 кг, P<0,05).

Лучшим комплексным генотипом по жирности молока (3,87 %) был генотип CSN3 AB / DGAT1 КК. Худшие показатели жирномолочности и белкомолочности присущи коровам с генотипом CSN3 AA / DGAT1 АК.

Выводы

1. В стаде черно-пестрого скота преобладают три генотипа CSN3 AA / DGAT1 AA, CSN3 AA / DGAT1 АК, CSN3 AB / DGAT1 АК с частотой 16,2-37,0

%, 15,9-43,7 %, 13,4-31,2 % соответственно.

2. Высокой молочной продуктивностью обладали первотелки с комбинацией генотипов CSN3 AB / DGAT1 АК, CSN3 BB / DGAT1 AA и CSN3 BB / DGAT1 АК.

3. Наибольшую молочную продуктивность имели высокопродуктивные коровы с комбинацией генотипов CSN3 BB / DGAT1 AA и CSN3 BB / DGAT1 АК.

Библиографический список

1. Багаль, И. Е. Генотипирование холмогорского и голштинского скота по генам пролактина и соматотропина / И.Е. Багаль // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2014. - № 5. - С. 11-13.
2. Калашников, В. В. Использование микросателлитных локусов ДНК для оценки генетического разнообразия орловской рысистой породы лошадей / В.В. Калашников // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2014. - № 2. - С. 30-33.
3. Ахметов Тахир Мунавирович Использование методов маркер-вспомогательной селекции в

молочном скотоводстве Республике Татарстан: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 06.02.01 / Т.М. Ахметов. – Казань, 2009. – 50 с.

4. Ганиев, А.С. Полиморфизм гена жирномолочности крупного рогатого скота / А.С. Ганиев, Р.Р. Шайдуллин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – Казань: КГАВМ, 2015.- Т. 224 (4). – С. 30-35.

5. Зиннатова, Ф.Ф. Генотипирование первотёлочек по локусу гена жирномолочности (DGAT1) и их молочная продуктивность / Ф.Ф. Зиннатова, Ш.К. Шакиров, А.М. Алимов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана. – 2010. – Т. 200. – С. 45-50.

6. Зиновьева, Н.А. ДНК-диагностика полиморфизма генов – белков молока крупного рогатого скота / Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь, О.В. Костюнина // Методы исследований в биотехнологии сельскохозяйственных животных. – М., 2004. – С. 7-22.

7. Иолчиев, Б.С. Взаимосвязь системы каппаказеина с молочной продуктивностью коров / Б.С. Иолчиев, В.И. Сельцов // Зоотехния. – 1999. - № 6.

– С.4-5.

8. Зиновьева, Н.А. Применение ДНК-диагностики для анализа генов-кандидатов локусов количественных признаков сельскохозяйственных животных / Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь // Научные труды ВИЖ. – Дубровицы, 2001. – Выпуск. 61. – С. 218-224.

9. Locarte, G.A. DGAT1 K 232A polymorphism in Brazilian cattle breeds / G.A. Locarte, M.A. Machado, M.L. Martinez et. all // Genetics and Molecular Research.- 5(3)- 2006.- P. 475-482.

10. Иванов, Ю.А. Качество молока и эффективность его производства / Ю.А.Иванов // Сельскохозяйственные машины и технологии. - 2012. - № 2. - С. 22-24.

11. Юльметьева, Ю.Р. Молекулярная диагностика генетического полиморфизма генов кандидатов молочной продуктивности на примере Племзавода «Рассвет» Кукморского района Республики Татарстан / Ю.Р. Юльметьева, Ш.К. Шакиров, Т.М. Ахметов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – Казань: КГАВМ, 2015.- Т. 224 (4). – С.280-284.

COMPLEX INFLUENCE OF CSN3 AND DGAT1 GENE POLYMORPHISM ON MILK PRODUCTIVITY OF BLACK-SPOTTED CATTLE

Shaidullin R.R., Ganiev A. S.
FSBEI HE Kazan state agrarian university
420015, Kazan, K.Marksa st., 65,
Tel.: (843) 236-65-22; e-mail: tppi-kgau@bk.ru

Key words: genotype, CSN3, DGAT1, cows, milk yield, protein, fat.

Presently, the greatest interest from the selection point of view presents genetic markers of milk productivity, such as kappa casein gene and diacylglycerol O-acyltransferase. The aim of the research was to study occurrence frequency of such complex genotypes, as CSN3 / DGAT1 and their influence on cow milk productivity. The object of study was heifers and highly-productive Black-Spotted cows, belonging to OOO 'Dusym' of Atninskiy region of Tatarstan Republic. CSN3 and DGAT1 cow genotyping was carried out with DNA-diagnostics method. There were 9 complex genotypes of Black-Spotted cattle discovered, the most frequent were: CSN3 AA / DGAT1 AA (16,2-37,0 %), CSN3 AA / DGAT1 AK (15,9-43,7 %), CSN3 AB / DGAT1 AK (13,4-31,2 %). Heifers with CSN3 AB / DGAT1 AK genotype surpassed the animals with CSN3 AA / DGAT1 AA, CSN3 AA / DGAT1 AK, CSN3 AA / DGAT1 KK, CSN3 AB / DGAT1 AA, CSN3 AB / DGAT1 KK genotype by milk yield by 490-884 kg ($P<0,05-0,001$), by fat mass fraction – by 20,8-32,2 kg ($P<0,05-0,001$), by protein mass fraction – by 16,4-26,8 kg ($P<0,05-0,001$). Among highly-productive cows, milk productivity advantage was shown by animals with CSN3 BB / DGAT1 AA and CSN3 BB / DGAT1 AK genotype kg ($P<0,05-0,001$). The research showed that the animals with CSN3 BB / DGAT1 AA and CSN3 BB / DGAT1 AK genotype have the greatest milk productivity both in the heifer group and in the group of highly-productive cows.

Bibliography

1. Bagal, I. E. Genotyping of Kholmogory and Holstein cattle by prolactin and somatotropin genes / I. E. Bagal // Vestnik of Russian academy of agricultural sciences. - 2014. - № 5. - pp. 11-13.
2. Kalashnikov, V. V. Usage of DNA microsatellite loci for assessment of genetic variety of Orlovskiy horse trotting breed / V. V. Kalashnikov // Vestnik of Russian academy of agricultural sciences. - 2014. - № 2. - pp. 30-33.
3. Akhmetov Takhir Munavirovich. Usage of methods of marker-assisted selection in dairy cattle of Tatarstan Republic: author's abstract of dissertation of Doctor of Biology: 06.02.01 / T.M. Akhmetov. - Kazan, 2009. – 50 p.
4. Ganiev, A.S. Butterfat content gene polymorphism of cattle / A.S. Ganiev, R.R. SHaidullin // Scientific notes of Kazan state academy of veterinary medicine named after N.E. Bauman. – Kazan: Kazan state academy of veterinary medicine, 2015.- V. 224 (4). – pp. 30-35.
5. Zinnatova, F.F. Genotyping of heifers by the locus of butterfat content gene (DGAT1) and their milk productivity / F.F. Zinnatova, Sh.K. Shakirov, A.M. Alimov // Scientific notes of Kazan state academy of veterinary medicine named after N.E. Bauman. – 2010. – V. 200. – pp. 45-50.
6. Zinoveva, N.A. DNA-diagnostics of polymorphism of milk protein genes of cattle / N.A. Zinoveva, E.A. Gladyr, O.V. Kostyunina // Research methods in bio technology of live-stock animals. – М., 2004. – pp. 7-22.
7. Iolchiev, B.S. Interaction of kappa casein system with cow milk productivity / B.S. Iolchiev, V.I. Seltsov // Zootechnics. – 1999. - № 6. – pp.4-5.
8. Zinoveva, N.A. Application of DNA-diagnostics for analysis of locus candidate genes of quantity properties of live-stock animals / N.A. Zinoveva, E.A. Gladyr // Scientific works of ARIAB. - Dubrovitsy, 2001. – issue. 61. – pp. 218-224.
9. Locarte, G.A. DGAT1 K 232A polymorphism in Brazilian cattle breeds / G.A. Locarte, M.A. Machado, M.L. Martinez et. all // Genetics and Molecular Research.- 5(3)- 2006.- P. 475-482.
10. Ivanov, Y.A. Milk quality and efficiency of its production / Y.A. Ivanov // Agricultural machinery and technology. - 2012. - № 2. - pp. 22-24.
11. Yulmeteva, Y.R. Molecular diagnostics of genetic polymorphism of milk productivity candidate genes, based on stud farm 'Rassvet' of Kukmorskiy district of Tatarstan Republic / Y.R. Yulmeteva, S.K. Shakirov, T.M. Akhmetov // Scientific notes of Kazan state academy of veterinary medicine named after N.E. Bauman. – Kazan: Kazan state academy of veterinary medicine, 2015.- V. 224 (4). – pp.280-284.