

ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА КОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОМПЛЕКСНЫХ ГЕНОТИПОВ ПО ГЕНАМ БЕТА-КАЗЕИНА И ЛЕПТИНА

М.А. Парамонова – аспирант, **Ф.Р. Валитов** – д.с-х.н., доцент, **Т.В. Кононенко** – к.с-х.н., м.н.с., **И.Н. Ганиева** – к.с-х.н., с.н.с.
ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ, г. Уфа, Россия, e-mail: paramonova95@mail.ru

Аннотация. Представлены результаты исследования полиморфизма генов бета-казеина (CSN2) и лептина (LEP) и связи различных сочетаний их комплексных генотипов с молочной продуктивностью и качественным составом молока коров голштинизированной черно-пестрой породы Республики Башкортостан. Коровы с генотипами CSN2^{A1A1}/LEP^{CC} и CSN2^{A2A2}/LEP^{CT} обладают лучшими показателями по удою и составу молока.

Ключевые слова: черно-пестрый скот, полиморфизм, генотип, бета-казеин, лептин, удои, качественный состав молока.

Введение. Одной из основных задач в области молочного скотоводства является получение высокопродуктивных животных, молоко которых обладает оптимальными технологическими качествами. Увеличение в стадах животных, несущих в своем геноме желательные варианты генов-кандидатов хозяйственно-полезных признаков, приведет к увеличению не только молочной продуктивности животных, но и к увеличению производства белкомолочной, жирномолочной продукции высокого качества [1].

Селекция по полиморфным генам позволяет идентифицировать и быстро ввести предпочтительные аллели в отдельное стадо или в определенную породу, с целью повышения продуктивности и улучшения технологических свойств молока [2].

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что признаки молочной продуктивности отличаются по своей вариабельности не только в пределах породы, но и в стадах. В одинаковых условиях содержания и кормления животных коэффициент изменчивости продуктивных качеств зависит в большей степени от генотипа животных [3].

Как известно, удои, содержание жира и белка в молоке обусловлены комплексным сочетанием генотипов генов-кандидатов молочной продуктивности [1]. В качестве потенциальных маркеров молочной продуктивности могут рассматриваться аллели генов молочных белков.

Многочисленные исследования указывают на то, что полиморфизм гена лептина (LEP) оказывает влияние на удои, массовую долю жира в молоке, жирнокислотный состав молока, количество соматических клеток в молоке у крупного рогатого скота [4].

Полиморфизм гена бета-казеина (CSN2) молока также является важным хозяйственным признаком для молочного животноводства в связи с его влиянием на количество удоев и содержанием белка и жира в молоке. Данный ген довольно хорошо изучен, и различными исследователями представлены многочисленные сведения о его полиморфных вариантах и их особенностях у различных пород крупного рогатого скота. Однако мало изучен вопрос о целесообразности выбора аллеля CSN2^{A2} в качестве критерия селекционного отбора применительно к молочному скоту, в том числе связи полиморфизма CSN2^{A1} и CSN2^{A2} с племенной ценностью по продуктивным признакам животных [5].

Кроме того, данных об ассоциации комплексных генотипов по генам CSN2 и LEP с количеством удоев и качественными характеристиками молока у коров черно-пестрой голштинизированной породы в доступной литературе недостаточно. В связи с этим, данные исследования являются весьма насущными и актуальными.

Целью работы являлось изучение влияния комплексных генотипов по генам *CSN2* и *LEP* на уровень удоя и качественный состав молока коров черно-пестрой голштинизированной породы в условиях Республики Башкортостан.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе Научно-образовательного центра мирового уровня «Прогрессивные технологии, трансплантология и генотипирование. Лаборатория молекулярной генетики ФГБОУ ВО Башкирского ГАУ». Объектом исследования являлись образцы ДНК, полученные из крови коров черно-пестрой голштинизированной породы, содержащихся в ООО «Агропредприятие имени Калинина» Стерлитамакского района Республики Башкортостан, в количестве 276 голов.

ДНК выделяли из лейкоцитов крови в количестве 300 мкл с использованием комплекта реагентов для экстракции ДНК «ДНК-Экстран» (НПК «Синтол», г. Москва) согласно методике производителя. Для амплификации фрагментов генов *CSN2* и *LEP* использовали следующие праймеры:

CSN2F: 5'- CCT-TCT-TTC-CAG-GAA-CTC-CAG-G – 3'

CSN2R: 5'-GAG-TAA-GAG-GAG-GGA-TGT-TTT-GTG-GGA-GGC-TCT– 3'

LEP F1: 5'- CGG-TTC-GAT-GTG-CCA-CGT-GTG-GTT-TCT-TCTGT – 3'

LEP R1: 5'- CGG-TTC-TAC-CTC-GTC-TCC-CAG-TCC-CTC-C – 3'

LEP F2: 5'- TGT-CTT-ACG-TGG-AGG-CTG-TGC-CCA-GCT – 3'

LEP R1: 5'- AGG-GTT-TTG-GTG-TCA-TCC-TGG-ACC-TTT-CG – 3'

После амплификации каждый фрагмент ДНК был подвергнут расщеплению при помощи эндонуклеазы рестрикции (*DdeI*). Гидролиз проводили при температуре 37С° в течение 12 часов.

Определение длины аллелей проводили при использовании маркера молекулярных масс *pUC/Msp1*, предоставленного фирмой «Сибэнзим». Для анализа изображения гелей после электрофореза в ПААГе применяли гельдокументирующую систему GelDoc XR и прилагаемое к ней программное обеспечение ImageLab версия 2.0 «DNAanalyser».

Достоверность различий между средними величинами сравниваемых групп оценивали по критерию Стьюдента с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследований. В результате амплификации ДНК крови коров с последующим ПДРФ-анализом были получены специфические фрагменты генов *CSN2* и *LEP*. Также было выявлено два аллеля бета-казеина – A^1 и A^2 и три генотипа – $CSN2^{A1A1}$, $CSN2^{A1A2}$, $CSN2^{A2A2}$; два аллеля лептина – C и T и три генотипа – LEP^{CT} , LEP^{CC} , LEP^{TT} .

На рисунке 1 представлены частоты встречаемости комплексных (*CSN2/LEP*) генотипов в подконтрольной группе коров. У исследованных животных было выявлено восемь различных сочетаний генотипов: $CSN2^{A1A1}/LEP^{CC}$, $CSN2^{A1A1}/LEP^{CT}$, $CSN2^{A1A1}/LEP^{TT}$, $CSN2^{A1A2}/LEP^{CC}$, $CSN2^{A1A2}/LEP^{CT}$, $CSN2^{A1A2}/LEP^{TT}$, $CSN2^{A2A2}/LEP^{CC}$, $CSN2^{A2A2}/LEP^{CT}$. Представительниц генотипа $CSN2^{A2A2}/LEP^{TT}$ в данной выборке не обнаружено.

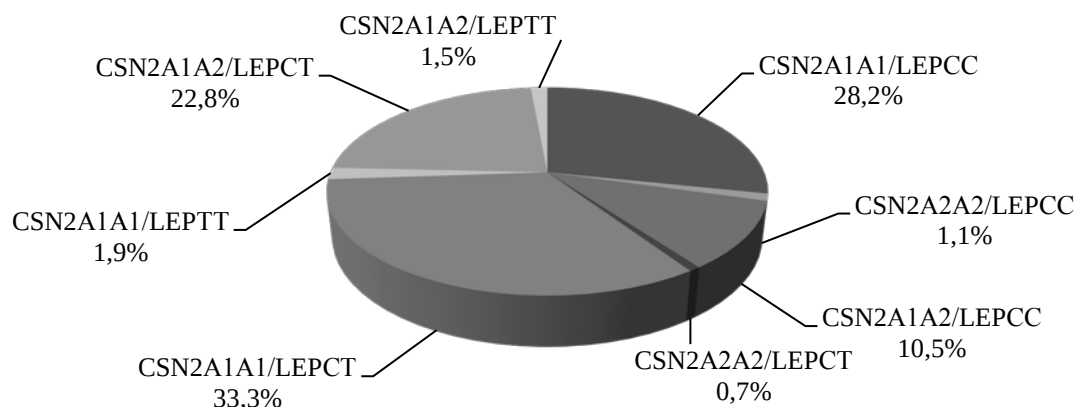


Рисунок 1. Частоты встречаемости комплексных генотипов *CSN2/LEP* у черно-пестрой породы крупного рогатого скота, %

В исследованной выборке коров наиболее часто встречаемым является генотип $CSN2^{A1A1}/LEP^{CT}$ (33,3%). Вторым по распространенности является генотип $CSN2^{A1A1}/LEP^{CC}$ с показателем 28,2%. Третью строчку занимает генотип $CSN2^{A1A2}/LEP^{CT}$, частота встречаемости которого составляет 22,8%. Процентное содержание в 10,5% наблюдается у генотипа $CSN2^{A1A2}/LEP^{CC}$. Наиболее редкими по распространенности являются особи с комплексными генотипами $CSN2^{A1A1}/LEP^{TT}$ и $CSN2^{A1A2}/LEP^{TT}$ (менее 2%), и с генным ансамблем $CSN2^{A2A2}/LEP^{CC}$ и $CSN2^{A2A2}/LEP^{CT}$ (около 1%).

На дальнейшем этапе исследования нами была выявлена связь комплексных генотипов по изучаемым генам с показателями молочной продуктивности, а также качественными показателями молока, полученного от коров каждого из обнаруженных генных сочетаний. Результаты данного исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели молочной продуктивности и качественные характеристики молока коров с разными комплексными генотипами по генам $CSN2$ и LEP , (M±m)

Показатель	Генотип								
	$CSN2^{A1A1}/LEP^{CC}$	$CSN2^{A1A2}/LEP^{CC}$	$CSN2^{A2A2}/LEP^{CC}$	$CSN2^{A1A1}/LEP^{CT}$	$CSN2^{A1A2}/LEP^{CT}$	$CSN2^{A2A2}/LEP^{CT}$	$CSN2^{A1A1}/LEP^{TT}$	$CSN2^{A1A2}/LEP^{TT}$	$CSN2^{A2A2}/LEP^{TT}$
n	78	29	3	92	63	2	5	4	-
Удой, кг	5864,3± 113,3**	5548,7± 190,9	5657,1± 819,7	5755,2± 113,3	5562,2± 123,4	4551,5± 507,5	5452,3± 550,35	5618,4± 320,5	-
Жир, %	4,02± 0,03	4,03± 0,05	4,12± 0,12	4,08± 0,03	4,18± 0,06	4,48± 0,08	4,35± 0,1	4,24± 0,06	-
Белок, %	3,22± 0,02	3,31± 0,02	3,08± 0,11	3,25± 0,02	3,30± 0,03	3,48± 0,04***	3,33± 0,07	3,26± 0,12	-
СОМО, %	8,4± 0,05	8,51± 0,07	8,33± 0,2	8,58± 0,05	8,32± 0,2	8,98± 0,26**	8,68± 0,23	8,64± 0,34	-
Плотность, °А	32,72± 0,32	32,86± 0,76	30,72± 0,18	32,5± 0,3	31,9± 0,4	32,03± 0,14	32,19± 0,73	32,0± 0,88	-
Выход жира, кг	233,4± 82,9	219,6± 62,7	235,5± 64,8	226,7± 65,9	232,5± 62,7	203,9± 31,1	237,2± 64,8*	235,1± 34,2	-
Выход белка, кг	188,8± 46,2*	183,7± 36,7	171,2± 38,3	187,0± 42,5	183,6± 33,3	158,4± 28,4	181,6± 22,7	183,2± 29,4	-

Примечание: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$.

Оценка молочной продуктивности данной выборки коров по комплексным генотипам генов $CSN2/LEP$ показала, что наименьшими удоями за лактацию, которые составляли 4551,5 кг, характеризуются животные с генотипом $CSN2^{A2A2}/LEP^{CT}$, в то время как самыми высокопродуктивными животными являются особи с $CSN2^{A1A1}/LEP^{CC}$ -генотипом, среднее количество удоев которых превышало удои молока вышеупомянутой группы на 22,4%. Разница по данным показателям является статистически достоверной ($p<0,01$). Это, вероятно, связано с тем, что аллели $CSN2^{A1}$ и LEP^C , каждый из которых положительно влияет на количество удоев, что доказано предыдущими исследованиями, в комплексе является улучшающим признаком молочной продуктивности. Кроме того, представительницы данной группы превосходили своих сверстниц по выходу белка с показателем 188,8 кг ($p<0,05$)

Исследования выявили четкую обратную закономерность между количеством удоев и содержанием жира в молоке животных изученной группы. По процентному содержанию жира в молоке разница между различными комплексными генотипами не является статистически достоверной. В целом, содержание жира в молоке коров имеет тенденцию к уменьшению в следующей последовательности $CSN2^{A2A2}/LEP^{CT} \rightarrow CSN2^{A1A1}/LEP^{TT} \rightarrow CSN2^{A1A2}/LEP^{TT} \rightarrow CSN2^{A1A2}/LEP^{CT} \rightarrow CSN2^{A2A2}/LEP^{CC} \rightarrow CSN2^{A1A1}/LEP^{CT} \rightarrow CSN2^{A1A2}/LEP^{CC} \rightarrow CSN2^{A1A1}/LEP^{CC}$. Что касается количества чистого жира в молоке, то наибольший выход наблюдается у группы коров с генотипом $CSN2^{A1A1}/LEP^{TT}$ (237,2 кг) при $p<0,05$.

Между показателями жирномолочности и белковомолочности существует различная по направлению и величине коррелятивная связь (таблица 1). Тесная и положительная связь установлена между количеством молочного белка и удоя. Максимальный выход молочного белка в 188,8 кг наблюдается у комплексного генотипа $CSN2^{A1A1}/LEP^{CC}$, который обладает наибольшими показателями молочной продуктивности ($p < 0,05$). При этом в изученной группе животных наблюдается закономерное снижение варибельности массовой доли молочного белка (с 3,48 до 3,08%) при повышении уровня удоя. Исключением является показатели группы коров с генотипом $CSN2^{A2A2}/LEP^{CC}$, которые при уровне удоя выше средних показателей, продуцировали молоко с наименьшим процентным содержанием белка. Это возможно связано с небольшим количеством коров выборки.

Как видно из данных таблицы 1, по содержанию СОМО коровы большинства комплексных генотипов продуцируют молоко, соответствующее сорту «Экстра» (более 8,5%). Данный показатель, в первую очередь, свидетельствует о сбалансированном питании животных, отсутствии заболеваний, типа мастит, и, в свою очередь, о полноценности молочного сырья. Самые высокие значения СОМО выявлены у группы коров с генным ансамблем $CSN2^{A2A2}/LEP^{CT}$, которые составили 8,98%. Разница с наименьшим процентным содержанием СОМО у группы особей с $CSN2^{A2A}/LEP^{CC}$ -генотипом в 8,32% является статистически достоверной ($p < 0,01$).

По показателям плотности молока статистически значимых различий между комплексными генотипами не обнаружено. Варибельность данного признака составила от 30,72 до 32,03°А. Наиболее высокая плотность молока выявлена у коров с генным ансамблем $CSN2^{A1A1}/LEP^{CC}$, которые закономерно продуцируют молоко наименьшей жирности.

Вывод. Таким образом, анализ молочной продуктивности коров каждой из выявленных групп показал, что коровы с комплексным генотипом $CSN2^{A1A1}/LEP^{CC}$ обладают наилучшими результатами по количеству удоев за 305 дней лактации, что соответствует ранее проведенным нами исследованиям. Самый низкий уровень молочной продуктивности обнаружен у коров с аллельным сочетанием $CSN2^{A2A2}/LEP^{CT}$, зато содержание жира, белка и СОМО в молоке данных особей оказалось самым высоким по сравнению с соответствующими показателями коров других групп. В связи с этим нами было выявлено улучшающее совместное действие аллеля A^1 гена бета-казеина и аллеля C гена лептина на показатели удоев и A^2 -аллеля гена $CSN2$ и T -аллеля гена LEP на качественный состав молока. Особи, обладающие таким сочетанием генных признаков, могут быть рекомендованы в качестве наиболее ценных в хозяйственном отношении животных.

Библиографический список

1. Взаимосвязь полиморфных вариантов гена каппа-казеин ($CSN3$) и бета-лактоглобулин (LGB) с показателями молочной продуктивности коров / Т.М. Ахметов, Ф.Ф. Зиннатов, Ф.Ф. Зиннатова, А.Р. Шамсова // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК», посвященной 145-летию Академии. – Казань: Казанская ГАВМ, 2018. С. 3-8.
2. Валитов Ф.Р., Парамонова М.А. Аллельные варианты A^1 и A^2 гена бета-казеина как критерий селекционного отбора коров черно-пестрой породы по удою // Материалы международной научно-практической конференции «Генетика, селекция, биотехнология: интеграция науки и практики в животноводстве». - Пушкин: Федеральный научный центр животноводства - ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных, 2021. С. 122-124.
3. Варибельность молочной продуктивности холмогорских и черно-пестрых коров с различным генотипом пролактина / Р.Р. Шайдуллин [и др.] // Агробiotехнологии и цифровое земледелие. 2022. №1. С. 40-42.

4. Полиморфизм генов лептина и диацилглицерол-оацилтрансферазы у голштинизированных чёрно-пёстрых быков / М. Ламара [и др.] // Агробιοтехнологии и цифровое земледелие. 2022. №2. С. 43-48.
5. Парамонова М.А., Валитов Ф.Р., Ганиева И.Н. Частота встречаемости аллельных вариантов гена бета-казеина коров черно-пестрой породы // Материалы Международной научно-практической конференции «Современные научные гипотезы и прогнозы: от теории к практике». – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский ГЭУ, 2021. С. 84-86.