

ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ ПЕРВОТЕЛОК ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ ИМЕЮЩИХ РАЗНЫЙ ГЕНОТИП ГЕНА *TG5*

Ф.Ф.Зиннатов¹, К.Ю.Николаева¹, Т.М.Ахметов¹, Ф.Ф.Зиннатова²,
Н.Д.Чевтаева², М.А.Стафикопуло¹

¹Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана,
Казань, Россия

²Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНИЦ РАН, Казань, Россия
e-mail: ffzinnatov@mail.ru

Аннотация. *Продукция молочного скотоводства является основным источником круглогодичного дохода сельскохозяйственных предприятий регионов от реализации молока и молочных продуктов. Сегодня система производства молока - это сложный биотехнологический процесс, а современный молочный комплекс - инженерно-биологическая структура. В связи с этим возникла необходимость улучшить его молочную продуктивность, в особенности удой и жирность молока. Для достижения этой цели, селекционеры используют генотипирование, чтобы определить генетический потенциал животных и выявить первотелок с желательными аллелями для использования в разведении.*

Ключевые слова. *ДНК, ген, TG5, тиреоглобулин, молочная продуктивность, первотелки, голштинская порода.*

THE STUDY OF INDICATORS OF MILK PRODUCTIVITY OF HOLSTEIN HEIFERS WITH DIFFERENT POLYMORPHISMS OF THE *TG5* GENE

Zinnatov F.F.¹, Nikolaeva K.Yu.¹, Akhmetov T.M.¹, Zinnatova F.F.²,
Chevtaeva N.D.², Stafikopulo M.A.¹

¹Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman

²Tatar Scientific Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences

Annotation. *Dairy cattle products are the main source of year-round income for regional agricultural enterprises from the sale of milk and dairy products. Today, the milk production system is a complex biotechnological process, and a modern dairy complex is an engineering-biological structure. In this regard, there was a need to improve its milk productivity, especially milk yield and milk fat content. To achieve this goal, breeders use genotyping to determine the genetic potential of animals and identify first-calf heifers with desirable alleles for use in breeding.*

Keywords. *DNA, gene, TG5, thyroglobulin, milk productivity, first heifers, Holstein breed.*

Введение. Для сохранения и развития молочного животноводства важно целенаправленное формирование стад с высоким генетическим потенциалом молочной продуктивности [1]. Современные разработки в области биотехнологии и молекулярной биологии открывают возможности для создания новых тест-систем, позволяющих определять генетические маркеры хозяйственно-полезных признаков не зависимо от возраста, пола или физиологического состояния животных [2]. Тем не менее, существуют значительные колебания количественных и качественных показателей молочной продуктивности среди особей внутри породы, и в процессе работы с голштинским скотом особое внимание уделяется первотелкам [3].

Изучение генома домашнего скота с целью выявления генов жирномолочности, связанных

с молочной продуктивностью, даст возможность решать глобальные селекционные задачи в племенном деле [4].

В нашей работе рассматривается ген жирномолочности – *TG5* (тиреоглобулин). Тиреоглобулин - важный белок щитовидной железы, который играет роль матрицы для образования гормонов в щитовидной железе, а также для их накопления и контролируемого высвобождения в железе. Многими зарубежными и отечественными учеными в своих исследованиях показано, что у коров, выведенных для производства молока, тиреоглобулин влияет на выход молочного жира и его долю в молоке [5].

Результаты и выводы проведенной научно-исследовательской работы указывают на необходимость использования животных, которые являются носителями желательного аллеля Т по гену *TG5*, при выборе родительских пар для разведения, чтобы улучшить молочную продуктивность, жирность и рентабельность производства молока.

Основной целью данного исследования явилось - изучение показателей молочной продуктивности первотелок голштинской породы имеющих в своем геноме различные вариации гена *TG5*, используя ДНК (ПЦР)-диагностику. Это позволит более точно определить генетический потенциал не только породы в целом, но и отдельных животных, а также обеспечить эффективный контроль и корректировку селекционных процессов.

Материалы и методы исследований. В марте 2023 года были проведены исследования, в ходе которых были получены образцы ДНК из лейкоцитов крови 100 коров-первотелок голштинской породы. Эти первотелки были предоставлены СХПК ПЗ им. Ленина Атнинского района Республики Татарстан. Кровь для анализа была собрана с помощью вакуумных пробирок из хвостовой вены.

ДНК выделяли стандартным набором «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» (Россия) предназначенный для экстракции нуклеиновых кислот из биологического материала. Амплификацию фрагментов гена тиреоглобулина (*TG5*) осуществляли с помощью следующих праймеров:

TG5-F: 5'-GGG-GAT-GAC-TAC-GAG-TAT-GAC-TG-3',

TG5-R: 5'-GTG-AAA-ATC-TTG-TGG-AGG-CTG-TA-3'.

ПЦР проводили с 2 мкл ДНК-образца, общий объем реакционной смеси в одной пробирке составлял 20 мкл (таблица 1).

Таблица 1. Состав реакционной смеси для амплификации гена *TG5*

Реагенты	Исходная концентрация	Итоговая концентрация	На 1 пробу (мкл)
dH ₂ O			12,4
dNTPs	2,5 мМ	0,25мМ	2
Taq Буфер	×10	×1	2
Taq ДНК полимеразы	5 ед	1 ед	0,2
TG5 F	11,5 мкМ	0,5 мкМ	0,87
TG5 R	19,0 мкМ	0.5 мкМ	0,53
ДНК			2
Всего			20

Далее проводили амплификацию с 2 мкл ДНК-образца, общий объем реакционной смеси в одной пробирке составлял 20 мкл. Для проведения рестрикционного гидролиза полученного амплификата использовался фермент эндонуклеаза *BstX2 I*. Пробы расщепляли согласно рекомендации протокола производителя. Смесь помещали в термостат (*Binder*, Германия) на 12 часов при 37°C.

Молекулярный вес продуктов ПЦР-ПДРФ-анализа определяли методом горизонтального электрофореза в 2,5% агарозном геле. Для приготовления геля использовали агарозу, трис-боратный буфер (*TBE*-буфер), 10%-ный бромистый этидий 5мкл. Электрофорез проведен при 200мА, 150В, 20Вт (Эльф-8, ДНК-Технология, Россия). Результаты электрофореза детектировали с помощью видеодокументирующей системы *GelDoc* (*BioRad*, США).

Основная часть. Анализ качества молока, экспресс-оценку процентного содержания жира, сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО) и плотности в одной пробе свежего цельного – определение его состава производили с использованием анализатора молока Клевер-2.

Также сравнительный анализ молока проведенных ранее исследований показал, что средний удой молока коров за 305 дней лактации составил – 6345,2 кг, а за всю лактацию – 8348,1 кг. Среднее содержание жира в молоке составило – 4,26%.

Все исследуемые животные находились в одинаковых условиях технологического содержания, кормления и ветеринарного обслуживания.

Результаты. При амплификации ДНК лейкоцитов крови первотелок с парой праймеров идентифицированы специфические фрагменты гена *TG5* длиной 548 п.н.. Затем, при последующем рестрикционном гидролизе и электрофорезе фрагментов в агарозном геле у коров, были обнаружены два аллеля – *C* и *T*, а также три генотипа *TG5^{TT}*, *TG5^{CT}*, *TG5^{CC}*. Фрагменты 473/75 п.н. соответствовали генотипу *TG5^{TT}*, фрагменты 473/295/178/75 п.н. – гетерозиготному генотипу *TG5^{CT}*, а фрагменты 295/178/75 нуклеотидов – генотипу *TG5^{CC}* (рисунок 1).

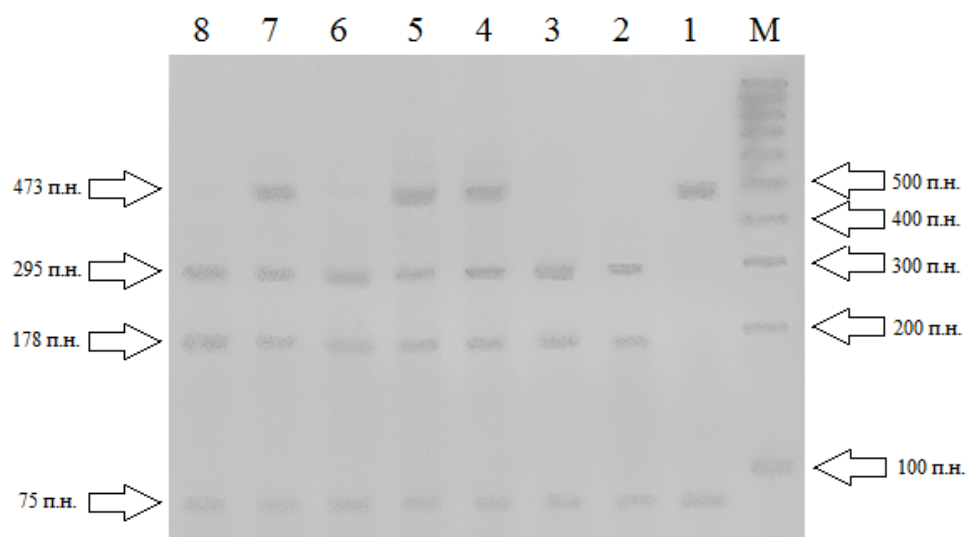


Рисунок 1. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена *TG5* крупного рогатого скота с праймерами *TG5-F*, *TG5-R* и эндонуклеазным расщеплением ферментом *BstX2 I*.

Обозначения: М – ДНК-маркеры 100 bp + 50 bp;

1 – генотип *TG5^{TT}* (473/75 п.н.);

2, 3, 6, 8 – генотип *TG5^{CC}* (295/178/75 п.н.);

4, 5, 7 – генотип *TG5^{CT}* (473/295/178/75 п.н.).

Из 100 исследованных первотелок, 8 были носителями генотипа *TG5^{TT}*, 35 – генотипа *TG5^{CT}*, а 57 – генотипа *TG5^{CC}*. Частота генотипа *TG5^{TT}* составила 8%, генотипа *TG5^{CT}* – 35%, а генотипа *TG5^{CC}* – 57%. Аллель *T* составил 0,32, аллель *C* – 0,68 (таблица 2).

Таблица 2. Частота встречаемости генотипов гена *TG5*

<i>TG5^{CC}</i>		<i>TG5^{CT}</i>		<i>TG5^{TT}</i>		Частота аллелей	
N	%	N	%	N	%	T	C
57	57	35	35	8	8	0,32	0,68

Исследование показало, что коровы с генотипом $TG5^{TT}$ демонстрировали высокий уровень удоя, составляющий 7135,6 кг молока, в то время как коровы с генотипом $TG5^{CT}$ имели чуть ниже показатели удоя - 6360,7 кг, а у коров с генотипом $TG5^{CC}$ удой составил - 6224,8 кг.

Наиболее жирным оказалось молоко коров с генотипом $TG5^{TT}$, их жирность составила - 4,39%, у коров с генотипом $TG5^{CC}$ - 4,34% жира, а у коров с генотипом $TG5^{CT}$ этот показатель был на уровне - 4,12% (таблица 3).

Таблица 3. Продуктивность первотелок с различными генотипами гена $TG5$

Генотип	Показатели продуктивности коров		
	Удой, кг	Жир, %	Массовая доля жира, кг
$TG5^{TT}$ (n=8)	7135,6 $\pm$ 152,78	4,39 $\pm$ 1,07	313,3 $\pm$ 1,6
$TG5^{CT}$ (n=35)	6360,7 $\pm$ 735,97	4,12 $\pm$ 0,72	262,1 $\pm$ 5,3
$TG5^{CC}$ (n=57)	6224,8 $\pm$ 844,75	4,34 $\pm$ 0,75	270,1 $\pm$ 6,3

Обсуждение и заключение. В процессе изучения молочной продуктивности первотелок голштинской породы, принадлежащих СХПК ПЗ им. Ленина Атинского района РТ, мы выяснили, что средний удой коров за 305 дней лактации составляет 6345,2 кг молока, а средняя жирность молока – 4,26%.

Также мы провели анализ крови коров и обнаружили 3 генотипа по гену тиреоглобулина. Животные с генотипом $TG5^{TT}$ имели самые высокие показатели молочной продуктивности: удой за 305 дней лактации составил 7135,6 кг молока, а жирность молока – 4,39%.

Анализ полиморфизма по гену $TG5$ показал, что коровы с генотипом $TG5^{TT}$ имеют наибольшую жирность молока и высший удой. Эти результаты имеют практическое применение в скотоводстве, так как они могут быть использованы для контроля и корректировки селекционных процессов.

Библиографический список

1. Зиннатова, Ф.Ф. Взаимосвязь полиморфизма гена бета-лактоглобулина с молочной продуктивностью у коров и коров первотелок / Ф.Ф. Зиннатова, А.М. Алимов, Ф.Ф. Зиннатов // Ученые записки КГАВМ. – 2012. – №211. – С. 206-209.
2. Калашникова, Л. А., Оценка полиморфизма комплексных генотипов CSN3, LGB, PRL, GH, LEP и молочной продуктивности у холмогорских коров/ Л. А. Калашникова, Я. А. Хабибрахманова, И. Е. Багаль, В. Л. Ялуга, В. П. Прожерин // Молочное и мясное скотоводство. – 2019. – № 2. – С. 14–17.
3. Крупин, Е.О. Молочная продуктивность и качество молока коров в зависимости от генотипа / Е.О. Крупин, Ш.К. Шакиров, М.Ш. Тагиров // Дальневосточный аграрный вестник. – 2017. – № 4. – С. 120-125.
4. Николаева, К. Ю. Взаимосвязь молочной продуктивности коров с полиморфизмом гена LGB / К. Ю. Николаева, Л. Н. Хасанова // Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК: Сборник материалов международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, посвященной 150-летию ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, Казань, 15–16 марта 2023 года. Том I. – Казань: Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2023. – С. 124-127.
5. Sedykh T.A. Influence of TG5 and LEP gene polymorphism on quantitative and qualitative meat composition in beef calves /T.A. Sedykh, L.A. Kalashnikova, I.V. Gusev, I.Yu. Pavlova, R.S. Gizatullin, I.Yu. Dolmatova//Iraqi Journal of Veterinary Sciences. -2016. -Т. 30. -№ 2. -С. 41-48.