

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО МАРКЕРНЫМ ГЕНАМ

© И. Ю. Долматова*, Ф. Р. Валитов

*Башкирский государственный аграрный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450001 г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34.*

Тел./факс: +7 (347) 228 15 11.

**Email: dolmat@list.ru*

Приводится краткая характеристика полиморфных ДНК-маркеров крупного рогатого скота, ассоциированных с показателями молочной продуктивности и некоторыми технологическими качествами молока.

Ключевые слова: *генетический полиморфизм, гены-кандидаты, продуктивность, аллели, крупный рогатый скот, каппа- и бета-казеин, бета-лактоглобулин, альфа-лактальбумин, пролактин, соматотропин, маркерная селекция.*

Введение

Развитие животноводства на современном этапе предполагает разработку новых биотехнологических методов оценки признаков продуктивности сельскохозяйственных животных, базирующихся непосредственно на анализе наследственной информации. Внедрение в практическое животноводство генной диагностики является актуальной задачей фундаментальной и прикладной биотехнологии.

Современные молекулярно-генетические методы позволяют определять наличие ценных вариантов генов, связанных с признаками продуктивности. Выявление предпочтительных с точки зрения селекции вариантов таких генов (генов-кандидатов) позволит дополнительно к традиционным методам отбора животных, проводить маркер-зависимую селекцию [1, 4, 12].

В настоящей работе приводятся результаты исследований полиморфизма генов-кандидатов белков молока и генов гормонов, обуславливающих уровень молочной продуктивности коров.

Материалы и методы

Материалом исследований служили выборки коров плановых пород из племенных хозяйств республики Башкортостан (черно-пестрой, бестужевской и симментальской пород).

Полиморфизм генов каппа- и бета-казеина, бета-лактоглобулина, альфа-лактальбумина, пролактина и соматотропина выявлен методом ПЦР-ПЦР с использованием соответствующих эндонуклеаз рестрикции [8–11].

Результаты и обсуждение

Все молочные белки делятся на две основные группы: казеин и сывороточные белки. На долю казеина, который представлен несколькими фракциями (α -, β - и κ -) приходится чуть более 80% всего молочного белка. Около 17% составляют сывороточные белки. К ним относятся α -лактоальбумин, β -лактоглобулин, а также иммуноглобулины и сывороточный альбумин. Все белки молока характеризуются наличием генетиче-

ски детерминированных полиморфных вариантов, отличающихся одной или несколькими аминокислотными заменами, в свою очередь, обусловленных нуклеотидными заменами в разных аллелях одного гена.

В табл. 1 представлены данные о спектре генов-кандидатов молочных белков, которые оказывают влияние на проявление признаков молочной продуктивности коров.

Также установлено, что наличие аллеля CSN3^B в геноме животных связано с лучшей сыропригодностью молока (более короткое время свертывания, лучшее качество сгустка, более высокий выход белкомолочных продуктов лучшего качества) [6, 8, 9].

Каппа-казеины выполняют роль стабилизирующего фактора в образовании мицеллярной структуры при свертывании молока [14]. Гены казеинов у крупного рогатого скота локализованы на 6 хромосоме и представляют кластер из четырех тесно сцепленных генов. Протяженность кластера составляет около 200 т.п.н. [16]. А и В- аллельные варианты каппа-казеина (CSN3^A и CSN3^B), отличаются двумя аминокислотными заменами в 135 и 148 положениях полипептидной цепи. Аллель CSN3^B каппа-казеина ассоциирован с более высоким удоем, а также более высоким содержанием белка в молоке.

Ген альфа-лактоальбумина (ALA) имеет размер 2784 п.о. и содержит 4 экзона и 3 интрона [15, 17]. В настоящее время известно 3 варианта данного гена (ALA^A, ALA^B и ALA^C). Наиболее часто встречаются варианты ALA^A и ALA^B. Вариант ALA^A отличается от варианта ALA^B аминокислотной заменой в позиции 263. Генотип α LA^{BB} альфа-лактальбумина ассоциирован с более высокими надоями, а генотип α LA^{AB} – с более высоким содержанием белка и жира в молоке.

Бета-казеин (CSN2) состоит из 209 аминокислот, его содержание составляет 46–61% от общего казеина. Ген имеет длину 10338 п.о. и состоит из 9 экзонов и 8 интронов [7].

Наличие в генотипе аллеля CSN2^B бета-казеина коррелирует с повышенным содержанием жира и казеина. Также установлено наличие достоверной разности по удою между генотипами (CSN2^{AA}>CSN2^{AB}>CSN2^{BB}).

Таблица 1

Гены белков молока как маркеры молочной продуктивности			
Полиморфный ген	Обозначение	Генотипы	Оказываемый эффект
Каппа-казеин	CSN3, κ Cn	CSN3 ^{AA} , CSN3 ^{AB} , CSN3 ^{BB}	Удой, % белка, сыропригодность молока
Бета-казеин	CSN2, β Cn	CSN2 ^{AA} , CSN2 ^{AB} , CSN2 ^{BB}	Удой, % жира, сыропригодность молока
Бета-лактоглобулин	BLG, β LG	BLG ^{AA} , BLG ^{AB} , BLG ^{BB}	Удой, % жира, сыропригодность молока
Альфа-лактоальбумин	LALBA, α LA	α LA ^{AA} , α LA ^{AB} , α LA ^{BB}	Удой, % белка, % жира

Ген β-лактоглобулина (LGB) имеет размер 4662 п.о. и состоит из 7 экзонов и 6 интронов. Наиболее часто встречающиеся генетические варианты бета-лактоглобулина – LGB^A и LGB^B, которые отличаются двумя аминокислотными заменами: Asp 64 (LGB^A) – Gly 64 (LGB^B) и Val 118 (LGB^A) – Ala 118 (LGB^B) и соответственно кодируются разными аллелями данного гена [5, 10, 13]. Аллель BLG^B гена бета-лактоглобулина связан с высоким содержанием в молоке казеиновых белков и высоким процентом жира, а вариант BLG^A характеризуется высоким содержанием сывороточных белков. Показано также влияние генотипов BLG на величину удоев (коровы с генотипами BLG^{AB} и BLG^{BB} характеризуются более высокими удоями) [2, 9].

Внедрение маркерной селекции должно опираться на сведения о распространенности «желательных» и «нежелательных» аллелей и генотипов по маркерным генам у наиболее распространенных пород крупного рогатого скота в конкретных регионах их разведения. В табл. 2 представлены результаты изучения распространенности аллелей и генотипов генов молочных белков в Республике Башкортостан. Из таблицы видим, что у исследованных пород крупного рогатого скота частота желательных генотипов по каппа-казеину (CSN3^{BB}) не превышает

5%, а по гену альфа-лактоальбумина (ALA^{BB}) – не превышает 19%. Только по гену β-лактоглобулина частота генотипа LGB^{BB}, ассоциированного с более высокими надоями, находится на удовлетворительном, с точки зрения селекции уровне, и составляет 31–37%.

Вторую группу генов, влияющих на молочную продуктивность, составляют полиморфные гены гормонов, в частности, соматотропина и пролактина, которые являются пептидными гормонами гипофиза. Названные гены определяют развитие животных, подготовку к лактации и стимулируют саму лактацию.

Соматотропин (гормон роста) – важнейший регулятор, обладающий лактогенным, жиромобилизующим и рост-стимулирующим действием. Изучено два участка этого гена – экзон 4 и интрон 3 [1, 3, 11]. Полиморфизм в интроне 3, тестируемый с использованием рестриктазы MspI оказался информативным для изучения связей с признаками молочной продуктивности. Полиморфизм экзона 4 гена GH обусловлен транзицией C→A, что приводит к аминокислотной замене в позиции 127 (Leu→Val) в белковом продукте и наличию/отсутствию AluI – сайта в нуклеотидной последовательности гена. Аминокислота лейцин соответствует аллелю AluI(+), а валин – AluI(-).

Таблица 2

Частоты встречаемости генотипов и аллелей по генам молочных белков у изученных пород крупного рогатого скота в РБ

Локус	Порода	N	Частота генотипов, %			Частота аллелей	
			CSN3 ^{AA}	CSN3 ^{AB}	CSN3 ^{BB}	CSN3 ^A	CSN3 ^B
Каппа-казеин	Черно-пестрая	325	57.02	37.75	5.23	0.76	0.24
	Бестужевская	285	53.2	45.5	1.8	0.75	0.25
	Симментальская	135	79.5	18.0	2.5	0.89	0.11
Бета-лактоглобулин	Черно-пестрая	500	Частота генотипов, %			Частота аллелей	
			LGB ^{AA}	LGB ^{AB}	LGB ^{BB}	LGB ^A	LGB ^B
			28.0	36.0	36.0	0.46	0.54
	Бестужевская	141	14.9	47.5	37.6	0.40	0.60
			131	14.5	54.2	31.3	0.42
Альфа-лактоальбумин	Черно-пестрая	500	Частота генотипов, %			Частота аллелей	
			ALA ^{AA}	ALA ^{AB}	ALA ^{BB}	ALA ^A	ALA ^B
			21.0	60.0	19.0	0.51	0.49
	Бестужевская	145	50.3	40.0	9.7	0.70	0.30
			133	51.9	38.3	9.8	0.71

Таблица 3

Гены гормонов, влияющие на молочную продуктивность

Полиморфный ген	Обозначение	Генотипы	Оказываемый эффект
Соматотропин, экзон 4	GH	GH ^{LL} , GH ^{LV} , GH ^{VV}	Удой, % жира
Соматотропин, интрон 3	GH	GH ^{CC} , GH ^{CD} , GH ^{DD}	Удой, % жира
Пролактин	PRL	PRL ^{AA} , PRL ^{AB} , PRL ^{BB}	Удой, % жира

Таблица 4

Частоты встречаемости генотипов и аллелей по генам гормонов у изученных пород крупного рогатого скота в РБ

Локус	Порода	N	Частота генотипов, %			Частота аллелей	
			GH ^{CC}	GH ^{CD}	GH ^{DD}	GH ^C	GH ^D
Соматотропин, интрон 3	Черно-пестрая	250	0.160	0.660	0.190	0.74	0.26
	Бестужевская	250	0.455	0.325	0.220	0.62	0.38
	Симментальская	150	0.27	0.57	0.16	0.51	0.49
Соматотропин, экзон 4	Черно-пестрая	250	Частота генотипов			Частота аллелей	
			GH ^{LL}	GH ^{LV}	GH ^{VV}	GH ^{LL}	GH ^{VV}
			0.195	0.625	0.180	0.72	0.28
	Бестужевская	250	0.085	0.590	0.325	0.38	0.62
			150	0.37	0.39	0.24	0.56
Пролактин	Черно-пестрая	640	Частота генотипов			Частота аллелей	
			PRL ^{AA}	PRL ^{AB}	PRL ^{BB}	PRL ^A	PRL ^B
			74.8	22.3	2.9	0.86	0.14
Бестужевская	64	28.6	63.5	7.9	0.6	0.4	
		82	13.4	68.3	18.3	0.47	0.53

Коровы, имеющие генотип GH^{VV} , по четвертому экзону гена гормона роста характеризуются более высокими удоями, а также выходом молочного жира и белка. Молоко коров с генотипом GH^{LL} имеет более высокую жирномолочность [3]. Коровы с генотипами GH^{DD} имеют наибольшие надо

Наличие аллеля GH^D третьего интрона гена гормона роста является наиболее благоприятным с точки зрения хозяйственной ценности и и больший выход молочного жира по сравнению с генотипами GH^{CC} и GH^{CD} [1, 3].

Основная функция пролактина у млекопитающих – стимуляция развития молочных желез, а также образования и секреции молока. Ген пролактина у крупного рогатого скота локализован на 23 хромосоме и состоит из пяти экзонов и четырех интронов [1, 9]. Молчащая A-G транзиция, возникающая в 103 кодоне экзона 3 приводит к появлению полиморфного RsaI-сайта. Коровы с генотипами PRL^{BB} по гену пролактина, по данным многих исследователей, являются наиболее обильномолочными и жирномолочными, а также имеют самый высокий выход молочного жира и белка.

Из табл. 4 можно видеть, что частоты генотипов по генам гормонов, благоприятно влияющих на молочную продуктивность, значительно ниже «неблагоприятных». Так, генотипы GH^{DD} и GH^{VV} по гену гормона роста имеют частоту от 0.16 до 0.22 и 0.18 до 0.325 соответственно. Частота генотипа PRL^{BB} гена гормона роста у черно-пестрой и бестужевской пород не превышает 2.9–7.9%, а у симментальской – несколько выше и составляет 18.3%.

Выводы

Учитывая, что частоты «благоприятных», с точки зрения молочной продуктивности, генотипов по исследованным полиморфным генам молочных белков и гормонов, не превышают 25%, следует рекомендовать проведение молекулярно-генетического тестирования молочных пород для объективной оценки генетической ситуации и накопления в стадах желательных генотипов, позволяющих повысить обильномолочность и улучшить качество молока.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (Поволжье, № проекта 08–04–97069).

ЛИТЕРАТУРА

1. Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства / отв. ред. И. А. Захаров. М.: Наука, 2006. 462 с.
2. Долматова И. Ю., Гареева И. Т., Ильясов А. Г. Влияние полиморфных вариантов гена бета-лактоглобулина крупного рогатого скота на молочную продуктивность // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2010. №1(3). С. 18–23.
3. Долматова И. Ю., Ильясов А. Г. Полиморфизм гена гормона роста крупного рогатого скота в связи с молочной продуктивностью // Генетика, 2011. Т.47. №6. С. 1–7.
4. Долматова И. Ю., Гареева И. Т., Ильясов А. Г. ДНК-технологии в животноводстве // Достижения науки и техники АПК. 2010. №2. С. 42–43.
5. Ельчанинов В. В. Номенклатура и биохимические свойства основных сывороточных белков. Бета-лактоглобулин // Сыроделие и маслоделие. 2009. №2. С. 38–39.
6. Зарипов О. Г. Изменчивость признаков молочной продуктивности у коров с разными генотипами каппа-казеина // Ученые записки КГАВМ. 2008. Т.193. С. 100–104.
7. Зиновьева Н. А., Гладырь Е. А., Эрнст Л. К., Брем Г. Введение в молекулярную генетическую диагностику сельскохозяйственных животных. Дубровицы: ВИЖ, 2002. 112 с.
8. Иолчев Б., Левина Г., Миносян Т., Кондрахин Л., Никольская Л. Влияние генотипа каппа-казеина на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы // Молочное и мясное скотоводство. 2003. №3. С. 34–35.
9. Калашникова Л. А., Хабибрахманова Я. А., Тинаев А. Ш. Влияние полиморфизма генов молочных белков и гормонов на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы // Доклады РАСХН. 2009. №4. С. 49–51.
10. Шапканова Е. В. Молочная продуктивность черно-пестрого скота с разными генотипами бета-лактоглобулина // Зоотехния. 2010. №12. С. 2–3.
11. Хатами С. Р., Лазебный О. Е., Сулимова Г. Е. ДНК-полиморфизм генов гормона роста и пролактина у ярославского и черно-пестрого скота в связи с молочной продуктивностью // Генетика. 2005. Т.41. №2. С. 229–236.
12. Эрнст Л. К., Зиновьева Н. А. Биологические проблемы животноводства в XXI веке. М.: РАСХН, 2008, 508 с.
13. Erhardt G. J., Juszczak, L. Panicke, H. Krick-Saleck. Genetic polymorphism of milk proteins in Polish Red Cattle: a new genetic variant of β -lactoglobulin // Journal of Animal Breeding and Genetics. 1998. V. 115. P. 63–71.
14. Fiat A.-M., Jolles P. Caseins of various origins and biologically active casein peptides and oligosaccharides: Structural and physiological aspects. // Mol. Cell. Biochem. 1989. V. 7. P. 5–30.
15. Rechmi R. C., Stephen M. Evaluation of lactation milk yield and polymorphism of alpha-lactalbumin gene in crossbred cattle of Cerala // Agriculture Fishery and Veterinary Sciences. 2010. №5. P. 235–238.
16. Rijnkels M., Kooiman P. M., Deboer H. A., Pieper F. R. Organization of the bovine casein gene locus. // Mammal.Genome. 1997. V. 8. P. 148–152.
17. Yardibi H., Crooker B. A. Association of alpha-lactalbumin gene polymorphism with selection for milk yield in Holstein cows // J. Dairy Sci. 2009. 76. 1. P. 149–153.

Поступила в редакцию 02.07.2014 г.

После доработки – 08.09.2014 г.

ASSESSMENT OF THE GENETIC POTENTIAL OF CATTLE BY MARKER GENES

© I. Y. Dolmatova*, F. R. Valitov

Bashkir State Agrarian University

34 50-letiya Oktyabrya St., 450001 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

Phone: +7 (347) 228 15 11.

**Email: dolmat@list.ru*

As material for study, selections of cows of black and motley, bestuzhevsky and simmentalsky breeds served. Polymorphism of genes kappa- and beta-casein, beta-lactoglobulin, alpha-lactoalbumin, prolactin and a somatotropin is revealed by the PCR-RFLP method. CSN3^B allele of kappa-casein is associated with higher yield of milk and also higher milk protein content and a suitability to production of cheese. The genotype α LA^{BB} alpha-lactoalbumin is associated with higher milk yield and a genotype α LA^{AB} with higher protein content and fat in milk. Existence in a genotype of CSN2^B allele of beta-casein correlates with the higher content of fat and casein. Allele of BLG^B of beta-lactoglobulin gene and allele ALA^B of alpha-lactoalbumin is connected with the high content in milk of casein proteins and high percent of fat and the BLG^A option is characterized by the high content of serum proteins. The cows having GH^{VV} genotype on a hormone of growth are characterized by higher yields of milk and also of milk fat and protein. Milk of cows with a genotype of GH^{LL} has higher fat content of milk. Existence of allele GH^D of the third intron of a gene of a hormone of growth is optimum from economic value point of view. Cows with genotypes of GH^{DD} have the greatest milk yield and a bigger yield of milk fat in comparison with GH^{CC} GH^{CD} genotypes. Cows with PRL^{BB} genotypes on prolactin gene, according to many researchers are the best compared by high yield of milk and fat content in milk, they also show the highest yield of milk fat and protein.

Keywords: *genetic polymorphism; genes-candidates, milk productivity, alleles, cattle, kappa- and beta-caseins, beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin, prolactin, growth hormone, marker assistant selection.*

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Genofondy sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: geneticheskie resursy zhivotnovodstva [Gene pools of farm animals: genetic resources of livestock] /otv. red. I. A. Zakharov. Moscow: Nauka, 2006.
2. Dolmatova I. Yu., Gareeva I. T., Il'yasov A. G. Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2010. No. 1(3). Pp. 18–23.
3. Dolmatova I. Yu., Il'yasov A. G. Genetika, 2011. Vol. 47. No. 6. Pp. 1–7.
4. Dolmatova I. Yu., Gareeva I. T., Il'yasov A. G. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2010. No. 2. Pp. 42–43.
5. El'chaninov V. V. Syrodelie i maslodelie. 2009. No. 2. Pp. 38–39.
6. Zariyov O. G. Uchenye zapiski KGAVM. 2008. Vol. 193. Pp. 100–104.
7. Zinov'eva N. A., Gladyr' E. A., Ernst L. K., Brem G. Vvedenie v molekulyarnuyu gennuyu diagnostiku sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh [Introduction to molecular genetic diagnosis of farm animals]. Dubrovitsy: VIZh, 2002.
8. Iolchev B., Levina G., Minosyan T., Kondrakhin L., Nikol'skaya L. Molochnoe i myasnoe skotovodstvo. 2003. No. 3. Pp. 34–35.
9. Kalashnikova L. A. Doklady RASKhN. 2009. No. 4. Pp. 49–51.
10. Shapkanova E. V. Zootekhnika. 2010. No. 12. Pp. 2–3.
11. Khatami S. R., Lazebnyi O. E., Sulimova G. E. Genetika. 2005. Vol. 41. No. 2. Pp. 229–236.
12. Ernst L. K., Zinov'eva N. A. Biologicheskie problemy zhivotnovodstva v XXI veke [Biological problems of livestock in 21st century]. Moscow: RASKhN, 2008.
13. Erhardt G. J., Juszczak, L., Panicke, H., Krick-Saleck. Genetic polymorphism of milk proteins in Polish Red Cattle: a new genetic variant of β -lactoglobulin. Journal of Animal Breeding and Genetics. 1998. Vol. 115. Pp. 63–71.
14. Fiat A.-M., Jolles P. Mol. Cell. Biochem. 1989. Vol. 7. Pp. 5–30.
15. Rechmi R. C., Stephen M. Agriculture Fishery and Veterinary Sciences. 2010. No. 5. Pp. 235–238.
16. Rijnkels M., Kooiman P. M., Deboer H. A., Pieper F. R. Mammal Genome. 1997. Vol. 8. Pp. 148–152.
17. Yardibi H., Crooker B. A. J. Dairy Sci. – 2009. 76. 1. Pp. 149–153.

Received 02.07.2014.

Revised 08.09.2014.