

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

УДК 636.087.26:636.2:577.121
DOI: 10.53083/1996-4277-2022-211-5-48-52

А.И. Афанасьева, В.А. Сарычев
A.I. Afanaseva, V.A. Sarychev

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ НА ОСНОВЕ ДНК-ДИАГНОСТИКИ ПО ГЕНАМ КАППА-КАЗЕИНА (CSN3), БЕТА-ЛАКТОГЛОБУЛИНА (BLG), АЛЬФА-ЛАКТАЛЬБУМИНА (LALBA) И ЛЕПТИНА (LEP)

CHARACTERISTICS OF BLACK PIED CATTLE GENETIC PROFILE BASED ON DNA DIAGNOSTICS BY KAPPA-CASEIN (CSN3), BETA-LACTOGLOBULIN (BLG), ALPHA-LACTOALBUMIN (LALBA) AND LEPTIN (LEP) GENES

Ключевые слова: генотип, черно-пестрая порода, полиморфизм, каппа-казеин (CSN3), бета-лактоглобулин (BLG), альфа-лактальбумин (LALBA) и лептин (LEP).

Алтайский край является одним из ведущих аграрных регионов России на рынке производства молока и молочной продукции, поэтому вопрос повышения качественных и количественных показателей молочной продуктивности для края является актуальным, и его решение невозможно без применения современных селекционно-генетических методов, в частности, маркерной селекции. Первым шагом для внедрения маркерной селекции является изучение генетического профиля популяции, который позволит не только разработать правильную селекционную программу, но и понять состояние племенных ресурсов. В связи с этим была дана характеристика генетического профиля крупного рогатого скота черно-пестрой породы на основе ДНК-диагностики по генам каппа-казеина (CSN3), бета-лактоглобулина (BLG), альфа-лактоальбумина (LALBA) и лептина (LEP). Исследования проведены в производственных условиях АО «Племпредприятие «Барнаульское» (n=20). Установлено, что наиболее распространёнными генотипами являются LEPCС – 45,6%, BLGAB – 48,9, LALBA AA – 60,1% и генотип CSN3AA, частота которого достигает 0,526. Альтернативный генотип CSN3BB, ассоциированный с жирно- и белковомолочностью, встречается у единичных животных. Частота редко встречающихся аллелей у исследованных животных следующая: LEPT – 32,5%, BLG B – 42,5, LALBA B – 22,5, CSN3 B – 27,5%. Генетико-статистический анализ показал, что во всех изучаемых генах показатель наблюдаемой гетерозиготности превышал величину ожидаемой гетерозиготности, кроме гена LEP. Полученные данные по величине индекса Ca (степень гомозиготности) свидетельствуют об однород-

ности популяции. Установленное значение величины информационного полиморфизма (PIC) изучаемых нами генов составляет от 0,3498 до 0,3725, что следует использовать при подборе генетических маркеров.

Keywords: genotype, Black Pied cattle, polymorphism, genes, kappa-casein (CSN3), beta-lactoglobulin (BLG), alpha-lactalbumin (LALBA), leptin (LEP).

The Altai Region is one of the leading agricultural regions of Russia in the market of milk and dairy products. Therefore, the issue of improving the qualitative and quantitative indices of milk production in the region is topical, and its solution is impossible without the use of modern breeding and genetic methods, in particular, marker-assisted breeding. The first step of marker-assisted breeding implementation is to study the genetic profile of the animal population that allows not only developing the correct breeding program, but also understanding the state of breeding resources. In this regard, the genetic profile of Black Pied cattle was characterized based on DNA diagnostics by the kappa-casein (CSN3), beta-lactoglobulin (BLG), alpha-lactalbumin (LALBA) and leptin (LEP) genes. The studies were carried out under production conditions of the breeding company AO Plempredpriyatie Barnaulskoe (n = 20). It has been found that the most common genotypes are LEPCС - 45.6%, BLGAB - 48.9%, LALBA AA - 60.1% and the CSN3AA genotype which frequency reaches 0.526. The alternative genotype CSN3BB associated with butterfat and protein content in milk occurs in single animals. The frequency of rare alleles in the studied animals was as following: LEPT - 32.5%, BLG B - 42.5%, LALBA B - 22.5%, CSN3 B - 27.5%. Genetic-statistical analysis showed that in all the studied genes, the index of observed heterozygosity exceeded the expected heterozygosity except for the LEP gene. The obtained values of the Ca index (homozygosity degree) are indicative of the ho-

mogeneity of the population. The determined value of the information polymorphism (PIC) of the genes under study

is from 0.3498 up to 0.3725 which should be used when selecting genetic markers.

Афанасьева Антонина Ивановна, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: antonina59-09@mail.ru.

Сарычев Владислав Андреевич, к.б.н., доцент, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: smy-asau@yandex.ru.

Afanaseva Antonina Ivanovna, Dr. Bio. Sci., Prof., Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: antonina59-09@mail.ru.

Sarychev Vladislav Andreevich, Cand. Bio. Sci., Assoc. Prof., Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: smy-asau@yandex.ru.

Введение

Алтайский край является одним из ведущих аграрных регионов России на рынке производства молока и молочной продукции. Производством молока в регионе занимаются более 430 хозяйств, поэтому вопрос повышения качественных и количественных показателей молочной продуктивности для края является актуальным, и его решение невозможно без применения современных селекционно-генетических методов, в частности, маркерной селекции.

Проблема нахождения эффективных генетических маркеров хозяйственно-полезных признаков связана с тем, что количественные признаки определяются большим количеством генов и обладают низким уровнем наследуемости [1].

Тем не менее в настоящее время уже выявлена группа генов, достоверно оказывающих влияние на молочную продуктивность, к ним относятся каппа-казеин (CSN3), бета-лактоглобулин (BLG), альфа-лактоальбумин (LALBA) и лептин (LEP). Выявление полиморфных вариантов этих генов может быть использовано в качестве генетических маркеров хозяйственно-полезных признаков, выступающих как дополнительные критерии при отборе животных, что позволит повысить эффективность селекционного процесса [2, 3].

Однако первым шагом для внедрения маркерной селекции является изучение генетического профиля популяции, который позволит не только разработать правильную селекционную программу, но и понять состояние племенных ресурсов.

Цель исследования – дать характеристику генетического профиля крупного рогатого скота черно-пестрой породы на основе ДНК-диагностики по генам каппа-казеина (CSN3), бета-лактоглобулина (BLG), альфа-лактоальбумина (LALBA) и лептина (LEP).

Материал и методы исследования

Исследования проведены в производственных условиях АО «Племпредприятие «Барнаульское». Объектом исследования послужили молодые быки-производители и коровы быкопроизводящей группы (n=20). Геномная ДНК была выделена из консервированной ЭДТА КЗ (трикалийевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты) цельной крови животных.

Полиморфизм генов каппа-казеина (CSN3), бета-лактоглобулина (BLG), альфа-лактоальбумина (LALBA), лептина (LEP) определяли по методике ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов), разработанной во Всероссийском НИИ племенного дела, согласно методическим рекомендациям Л.А. Калашниковой и др. (2015) [4] в лаборатории биотехнологии Сибирского научно-исследовательского и проектно-технологического института животноводства Сибирского федерального научного центра агробiotехнологий Российской академии наук.

Генетико-статистический анализ, включающий определение наблюдаемой (observed) гетерозиготности (Hobs), ожидаемой (expected) гетерозиготности (Hex), индекса фиксации (Fis), степени гомозиготности (Ca), уровня полиморфности (Na), степени генетической изменчивости (V), теста гетерозиготности (ТГ) и меры информационного полиморфизма (PIC), проведен в соответствии с рекомендациями Ю.В. Чеснокова, А.М. Артемьевой (2015) [5].

Статистическую обработку цифрового материала осуществляли с использованием метода вариационной статистики на персональном компьютере в программе StatSoft STATISTICA 10.0.1011 Eneterpise [Ru].

Результаты исследования

Применение генетических маркеров даёт возможность управлять генетической структурой стада, увеличить количество животных с пред-

почтительным генотипом и ускорить создание высокопродуктивных стад животных.

В настоящее время накоплен достаточно большой массив данных, позволяющих сделать вывод о большом значении ряда структурных генов, кодирующих молочные белки CSN3 (каппа-казеина), BLG (бета-лактоглобулина) и LALBA (альфа-лактальбумина), а также ген леп-

тина (LEP), контролирующий липидный обмен для формирования молочной продуктивности [6-8].

Результаты генотипирования молодых бычков-производителей и коров быкопроизводящей группы, используемых в АО «Племпредприятие «Барнаульское», представлены на рисунке.

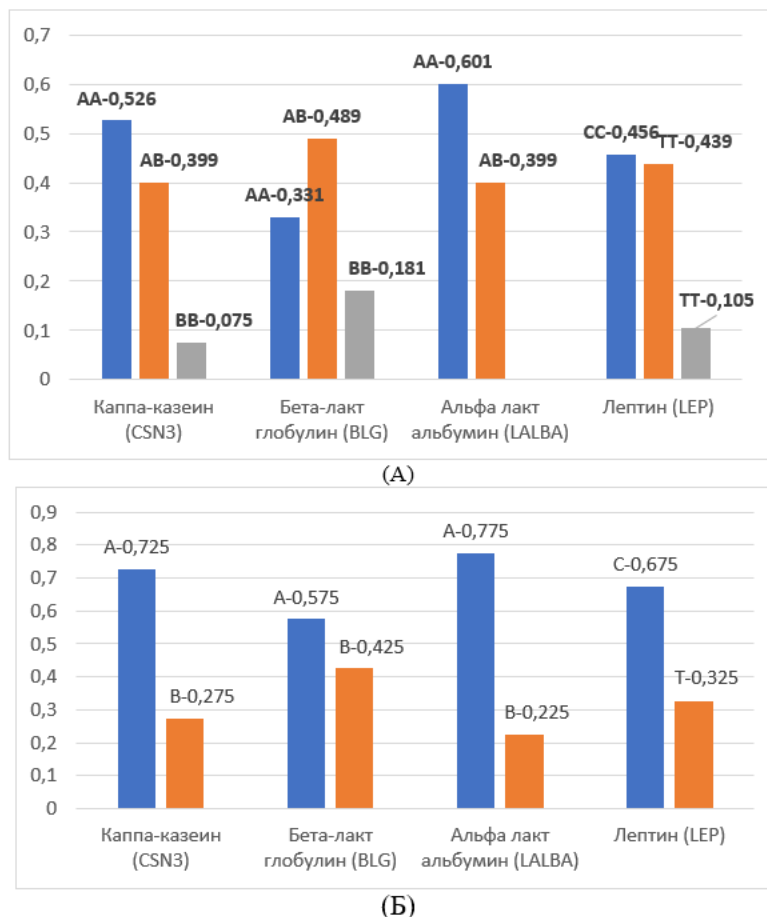


Рис. Частота генотипов (А) и аллелей (Б) генов, ассоциированных с молочной продуктивностью

Установлено, что наиболее распространёнными генотипами являются LEPCС – 45,6%, BLGAB – 48,9, LALBA AA – 60,1% и генотип CSN3AA, частота которого достигает 0,526. Альтернативный генотип CSN3BB, влияющий на технологические свойства молока (жирно- и белковомолочность и сыропригодность), встречается только у 7,5% исследованных животных. Частота редко встречающихся аллелей у исследованных животных следующая: LEPT – 32,5%, BLG B – 42,5, LALBAB – 22,5, CSN3 B – 27,5%.

С целью понимания особенностей и направленности селекционного процесса, а также выявления наиболее значимых ДНК-маркеров нами был проведён генетико-статистический анализ (табл.).

Одним из важных показателей, позволяющих оценить степень генетической изменчивости в популяции, является величина наблюдаемой (observed) гетерозиготности (Hobs), это связано с тем, что гетерозиготы несут разные аллели.

Снижение уровня гетерозиготности ведёт к повышению гомозиготности и снижению числа эффективных аллелей и уменьшению генетического разнообразия в популяции, что приводит к ослаблению адаптационных возможностей особей [5].

Установлено, что наибольшее значение величины Hobs отмечено по гену BLG – 0,65, а наименьшее – по гену LEP – 0,35. У генов CSN3 и LALBA это значение составило 0,45.

Показатели генетической структуры исследуемых животных

Показатель	CSN3 каппа-казеин	BLG бетта- лактоглобулин	LALBA альфа- лактальбумин	LEP лептина
Наблюдаемая (observed) гетерозиготность (Hobs)	9	13	9	7
Ожидаемая (expected) гетерозиготность (Hex)	7.975	9.775	6.97	8.78
Индекс фиксации (Fis)	-0,12853	-0,32992	-0,29125	0,202733
Степень гомозиготности (Ca), %	60,1	51,1	65,1	56,1
Уровень полиморфности (Na), %	1,70	1,97	1,54	1,78
Степень генетической изменчивости (V), %	40,1	31,1	45,1	36,1
Тест гетерозиготности (ТГ)	1,128 Ф>Т	1,329 Ф>Т	1,291 Ф>Т	0,797 Ф<Т
Мера информационного полиморфизма (PIC)	0.3498	0.3711	0.3725	0.3613

Более высокое значение ожидаемой (expected) гетерозиготности (Hex) отмечено по генам BLG и LEP – 0,48 и 0,44 соответственно, тогда как наименьшая величина этого признака зафиксирована по локусу гена LALBA – 0,34. Во всех изучаемых генах показатель наблюдаемой гетерозиготности превышал величину ожидаемой гетерозиготности, кроме гена LEP (табл.).

Индекс фиксации Райта (Fis) позволяет выявить отклонения гетерозиготных генотипов от теоретически ожидаемой гетерозиготности. При нехватке гетерозигот значение индекса Fis положительное, при избытке – отрицательное [5, 9]. Установлено, что значение индекса Fis было наименьшим для гена BLG (-0,329), а наибольшим – для гена LEP (0,203).

Изменение индекса Ca (степень гомозиготности) характеризует особенность консолидации генов, влияющих на уровень молочной продуктивности. Высокая степень гомозиготности, в изучаемой популяции, отмечается по генам LALBA и CSN3 – 65,1 и 60,1 соответственно, а наименьшая 51,1 и 56,1 – по генам LEP и BLG соответственно. Полученные данные по величине индекса Ca свидетельствуют об однородности популяции.

Уровень полиморфности (Na) указывает на то, что в изучаемой популяции число действующих аллелей изучаемых генов меньше возможного (2,0) [9]. При этом наибольшее значение установлено по локусу BLG – 1,96 и LEP – 1,78%. Значение возможной степени реализации генетической изменчивости (V) было выше у

локусов генов CSN3 и LALBA, что составило 40,1 и 45,1% соответственно.

Значение теста гетерозиготности (ТГ) свидетельствует о более высоком количестве гетерозигот по локусам генов CSN3 (1,128 Ф>Т), BLG (1,329 Ф>Т) и LALBA (1,291 Ф>Т) и низком по локусу лептина (0,797 Ф<Т), что подтверждает значение индекса фиксации (Fis).

Для оценки уровня селекционного значения изучаемых генетических маркеров молочной продуктивности нами был проведён расчёт величины информационного полиморфизма (PIC). Этот показатель определяется, в большей мере, распределением и частотой аллелей, позволяет оценить величину генетического разнообразия.

Установленное значение величины информационного полиморфизма (PIC) изучаемых нами генов составляет от 0,3498 до 0,3725, что следует использовать при подборе генетических маркеров.

Тенденции, установленные нами, способствуют выбору последующих направлений исследований. Проведение исследований с использованием большого количества животных, расчёт и анализ ассоциативных связей различных вариантов полиморфизма генов CSN3 (каппа-казеина), BLG (бета-лактоглобулина), LALBA (альфа-лактоальбумина), лептина (LEP) с продуктивными качествами будет являться фундаментальной основой для разработки более эффективных направлений в селекционно-племенной работе с крупным рогатым скотом черно-пестрой породы.

Библиографический список

1. Букаров, Н. Г. Генетический мониторинг в разведении и совершенствовании крупного рогатого скота / Н. Г. Букаров. – Дубровицы, 1999. – 36 с. – Текст: непосредственный.
2. Гетманцева, Л. В. Молекулярно-генетические аспекты селекции животных / Л. В. Гетманцева. – Текст: непосредственный // Молодой ученый. – 2010. – № 12-2. – С. 199-201.
3. Молекулярно-генетические маркеры в селекционной работе с разными видами сельскохозяйственных животных / М. И. Селионова, Е. А. Гладырь, Т. И. Антоненко, С. С. Бурилова. – Текст: непосредственный // Вестник АПК Ставрополя. – 2012. – № 2 (6). – С. 30-35.
4. Рекомендации по геномной оценке крупного рогатого скота / Л. А. Калашникова, Я. А. Хабибрахманова, И. Ю. Павлова [и др.]. – Текст: непосредственный // Лесные Поляны. – 2015. – 33 с.
5. Чесноков, Ю. В. Оценка меры информационного полиморфизма генетического разнообразия / Ю. В. Чесноков, А. М. Артемьева. – Текст: непосредственный // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 50, № 5. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-mery-informatsionnogo-polimorfizma-geneticheskogo-raznoobraziya> (дата обращения: 22.02.2022). – Текст: электронный.
6. Гены белков молока и микросателлитные профили в популяциях симментальского скота различного происхождения / Е. Н. Коновалова, О. А. Львина, В. И. Сельцов, Н. А. Зиновьева. – Текст: непосредственный // Сельскохозяйственная биология. – 2007. – Т. 42, № 6. – С. 35-40.
7. Bonfatti, V., Cecchinato, A., Gallo, L., et al. (2011). Genetic analysis of detailed milk protein composition and coagulation properties in Simmental cattle. *Journal of Dairy Science*. 94. 5183-93. DOI: 10.3168/jds.2011-4297.
8. Caroli, A., Chessa, S., Erhardt, G. (2009). Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*. 92. 5335-52. DOI: 10.3168/jds.2009-2461.
9. Изучение генетического разнообразия и популяционной структуры российских пород крупного рогатого скота с использованием полногеномного анализа SNP / Н. А. Зиновьева, А. В. Доцев, А. А. Сермягин [и др.]. – Текст: непосредственный // Сельскохозяйственная

биология. – 2016. – Т. 51, № 6. – С. 788-800. – DOI: 10.15389/agrobiology.2016.6.788rus.

References

1. Bukarov, N.G. Geneticheskii monitoring v razvedenii i sovershenstvovanii krupnogo rogatogo skota / N.G. Bukarov. – Dubrovitsy, 1999. –36 s.
2. Getmantseva, L.V. Molekuliarno-geneticheskie aspekty seleksii zhiivotnykh / L.V. Getmantseva // Molodoi uchenyi. – 2010. – No. 12-2. – S. 199-201.
3. Molekuliarno-geneticheskie markery v selektsionnoi rabote s raznymi vidami selskokhoziaistvennykh zhiivotnykh / M.I. Selionova, E.A. Gladyr, T.I. Antonenko, S.S. Burylova // Vestnik APK Stavropolia. – 2012. – No. 2 (6). – S. 30-35.
4. Kalashnikova L.A. Rekomendatsii po genomnoi otsenke krupnogo rogatogo skota / L.A. Kalashnikova, Ia.A. Khabibrakhmanova, I.Iu. Pavlova, T.B. Ganchenkova, M.I. Dunin, I.E. Pridanova. – Lesnye Poliany, 2015. – 33 s.
5. Chesnokov Iu.V., Artemeva A.M. Otsenka mery informatsionnogo polimorfizma geneticheskogo raznoobraziia // Selskokhoziaistvennaia biologiiia. – 2015. – T. 50, No. 5. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-mery-informatsionnogo-polimorfizma-geneticheskogo-raznoobraziya> (data obrashcheniia: 22.02.2022).
6. Geny belkov moloka i mikrosatellitnye profili v populiatsiiaikh simmentalskogo skota razlichnogo proiskhozhdeniia / E.N. Konovalova, O.A. Lvina, V.I. Seltsov, N.A. Zinoveva // Selskokhoziaistvennaia biologiiia. – 2007. – T. 42, No. 6. – S. 35-40.
7. Bonfatti, V., Cecchinato, A., Gallo, L., et al. (2011). Genetic analysis of detailed milk protein composition and coagulation properties in Simmental cattle. *Journal of Dairy Science*. 94. 5183-93. DOI: 10.3168/jds.2011-4297.
8. Caroli, A., Chessa, S., Erhardt, G. (2009). Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*. 92. 5335-52. DOI: 10.3168/jds.2009-2461.
9. Izuchenie geneticheskogo raznoobraziia i populiatsionnoi struktury rossiiskikh porod krupnogo rogatogo skota s ispolzovaniem polnogenomnogo analiza SNP / N.A. Zinoveva, A.V. Dotsev, A.A. Sermiagin [i dr.] // Selskokhoziaistvennaia biologiiia. – 2016. – T. 51, No. 6. – S. 788-800. – DOI 10.15389/agrobiology.2016.6.788rus.

