

УДК 636.2:575

Т. А. Луполов¹, В. С. Петку², Е. Ю. Гуминская³, А. В. Макарова⁴

¹Кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,
доцент кафедры природопользования и охраны природы,
МГПУ им. И. П. Шамякина, г. Мозырь, Республика Беларусь

²Кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,
зав. кафедрой биотехнологии в зоотехнии,
Государственный аграрный университет Молдовы, г. Кишинев, Молдова

³Кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,
зав. кафедрой природопользования и охраны природы,
МГПУ им. И. П. Шамякина, г. Мозырь, Республика Беларусь

⁴Студентка технолого-биологического факультета,
МГПУ им. И. П. Шамякина, г. Мозырь, Республика Беларусь

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЛОКУСОВ *QTL* И ИХ ВЛИЯНИЕ НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ КРАСНОЙ ЭСТОНСКОЙ ПОРОДЫ

*В статье приводится информация о генетическом полиморфизме локусов *QTL* и их взаимосвязи с продуктивностью коров. Определен аллелофонд популяции по лактопротеинам $\alpha SI-CN$, $\beta-CN$, $\kappa-CN$ $\beta-LG$. Во всех локусах обнаружен полиморфизм, самая низкая частота – 0,048 установлена для $\kappa-CN$ типа В. Установлено наличие взаимосвязей локусов с количеством надоенного молока, содержанием в нем жира и выходом молочного жира. Так, для повышения жирности молока желателен генотип $\beta-LG^A\beta-LG^A$ (4,08%), особи с генотипом AA по количеству жира (169,3 кг) превосходили своих сверстниц с генотипом $\beta-LG^B\beta-LG^B$ на 1,91 кг. Маркером для селекции животных по молочной продуктивности может служить локус $\beta-CN$. В наших исследованиях наиболее высокой продуктивностью обладали особи с генотипом $\beta-CN^A\beta-CN^B$ (4977 л). Выявленный полиморфизм может быть использован в качестве биохимического теста состояния генофонда породы, а также для прогнозирования на их основе продуктивных качеств животных.*

*Ключевые слова: генотип, генетический полиморфизм, *QTL*, лактопротеин, красная эстонская порода коров, продуктивность.*

Введение

Молочное скотоводство – одна из важнейших отраслей животноводства, экономическая эффективность которой определяется уровнем продуктивности коров: чем выше продуктивность, тем ниже затраты на единицу продукции и выше рентабельность производства. Увеличение удоя и повышение жирномолочности на протяжении многих лет являлись основными селекционируемыми показателями в молочном скотоводстве. Однако в современных условиях все большее внимание уделяется селекции, направленной на повышение содержания белка в молоке. Большое значение приобретает пригодность молока к выработке творога, сыра и других белкомолочных продуктов, поэтому в странах ЕС содержание белка в молоке является одним из основных селекционных признаков [1].

Возрастающее значение производства белковой продукции диктует необходимость использования генетических и селекционных методов для повышения экономической эффективности этого производства. В связи с этим предлагается считать генотипы казеина экономически важными селекционными критериями для пород крупного рогатого скота, специализированных в молочном направлении продуктивности [2].

Целью исследования явилось определение генетического полиморфизма локусов *QTL* (*Quantitative Trait Loci*) и их взаимосвязи с молочной продуктивностью коров красной эстонской породы.

Материалы и методы исследования. Опыты проводились совместно с кафедрой биотехнологии в зоотехнии Государственного аграрного университета Молдовы. Наследственно обусловленный тип белка – бета-казеин, альфа-s1-казеин, каппа-казеин, бета-лактоглобулин – определяли методом горизонтального электрофореза [3], [4] в молоке коров красной эстонской породы.

Вычисление генетического равновесия в изучаемых популяциях по каждому локусу проводили согласно тесту χ^2 .

Результаты исследования и их обсуждение

Казеин является гетерогенным белком, то есть при электрофорезе образует несколько фракций с разной подвижностью. Согласно последней классификации, казеины делятся на α_{s1} , β и κ -казеины, содержание которых соответственно составляет 38, 39 и 13% от всего казеина. Фракции казеина имеют генетические варианты. Первые две фракции являются фосфопротеидами. κ -казеин принадлежит к фосфогликопротеидам. α_{s1} и β -казеины чувствительны к ионам кальция, κ -казеин нет. Он осаждается сычужным ферментом. Все фракции характеризуются значительной термоустойчивостью, распределением вдоль полипептидной цепи полярных и неполярных аминокислот и др.

Альфа-S₁-казеин является основной фракцией казеина и представляет собой смесь двух белков – главного и минорного компонентов, имеющих одинаковую первичную структуру, но отличающихся степенью фосфорелирования. Главный компонент содержит 8 фосфосериновых остатков, а минорный компонент – 9 остатков. Альфа-S₁-казеин имеет пять генетических вариантов (*A*, *B*, *C*, *D* и *E*), отличающихся друг от друга как содержанием отдельных аминокислот, так и их расположением в полипептидной цепи [5].

В популяции коров красной эстонской породы в локусе *αSI-CN* обнаружено два аллеля: *αSI-CN^B* и *αSI-CN^C*, с частотами 0,9354 и 0,0646 соответственно.

Присутствие указанных аллелей в анализируемой популяции распределило животных на два генотипа (таблица 1).

Таблица 1. – Распределение популяции коров красной эстонской породы по типу *αSI-CN*

Генотип	Количество животных	χ^2
BB	27(27,12)*	0,0088
BC	4(3,74)	0,139
Итого	31(31)	0,1478

* в скобках указано теоретически ожидаемое число голов. То же для таблиц 2–4.

Из данных, представленных в таблице 1, следует, что из 31 исследуемых особей гомозиготным генотипом *BB* обладали 27 особей и 4 – гетерозиготным генотипом *BC*. Анализируемая популяция в данном локусе находилась в генетическом равновесии в соответствии с законом Харди-Вайнберга по тесту χ^2 (0,00–0,14).

Анализ влияния локуса *αSI-CN* на продуктивность коров показал, что гетерозиготы *BC* имели наибольшую продуктивность – 4648 л молока за лактацию, что на 423,3 л больше, чем у гомозиготных особей *BB* (рисунок 1).



Рисунок 1. – Молочная продуктивность коров красной эстонской породы разных генотипов по *αSI-CN*

Среднее содержание жира (рисунок 2) в молоке у гетерозиготных животных *BC* оказалось на 0,1% больше, чем у гомозигот по аллелю *B* (3,92%).

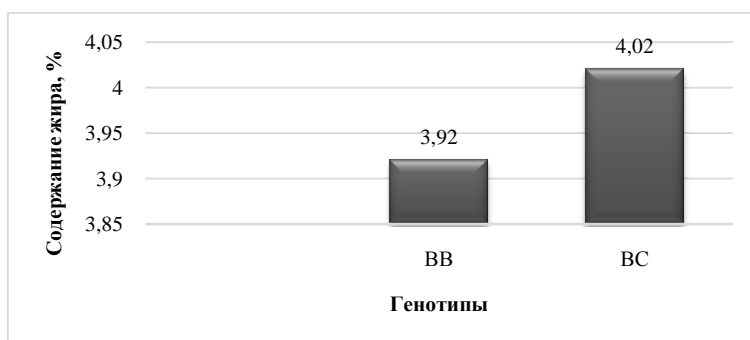


Рисунок 2. – Содержание жира в молоке коров красной эстонской породы разных генотипов по $\alpha SI-CN$

По количеству жира наблюдались те же тенденции, что и в случае рассмотренных выше показателей, а именно гетерозиготный генотип $\alpha SI-CN^B \alpha SI-CN^C$ с показателем 187,48 кг являлся преобладающим (рисунок 3).

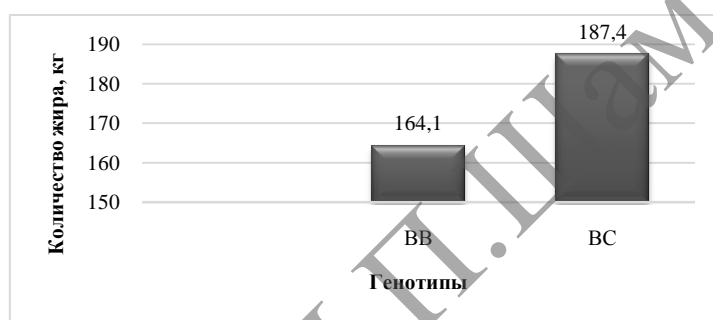


Рисунок 3. – Выход молочного жира в молоке коров красной эстонской породы разных генотипов по $\alpha SI-CN$

Таким образом, анализ влияния локуса $\alpha SI-CN$ на продуктивность коров показал, что преимущественным для селекции является гетерозиготный генотип $\alpha SI-CN^B \alpha SI-CN^C$.

Бета-казеин характеризуется повышенным содержанием валина, лейцина, пролина, пониженным содержанием аланина, аспарагиновой кислоты и отсутствием цистеина. Он не чувствителен к ионам кальция. Выяснено, что β -казеины после секреции могут гидролизываться под действием плазматина молока. После выхода β -казеина из состава казеиновых мицелл во время длительного хранения молока происходит его протеолиз с образованием нежелательных γ -казеинов и протеозопептонов, ухудшающих технологические свойства молока. Нормальное свежее молоко содержит около 3% γ -казеинов, однако их количество повышается (до 10% и выше) в конце лактации, при заболевании животного маститом, а также в результате нарушения режима кормления животных (при дефиците в рационах протеина). Количество протеозопептонов может составлять 2–10% всех белков молока [5].

В исследуемой популяции коров обнаружена полиморфность гена: $\beta-CN^A$ и $\beta-CN^B$, с частотами 0,9193 и 0,0807 соответственно, что привело к образованию трех генотипов (таблица 2).

Таблица 2. – Распределение популяции коров красной эстонской породы по типу $\beta-CN$

Генотип	Количество животных	χ^2
AA	27(26,2)*	0,02
AB	3(4,6)	0,57
BB	1(0,2)	3,2
Итого	31(31)	3,79

Из представленных данных видно, что 87,09% особей обладали гомозиготным генотипом AA и одна особь (3,22%) генотипом BB. Распределение соответствующих генотипов соответствовала ожидаемому распределению Харди-Вайнберга по тесту χ^2 .

Анализ влияния локуса β -CN на продуктивность коров красной эстонской породы показал превосходство генотипа АВ (4977 л молока) над генотипом АА (4210,5 л) (рисунок 4).

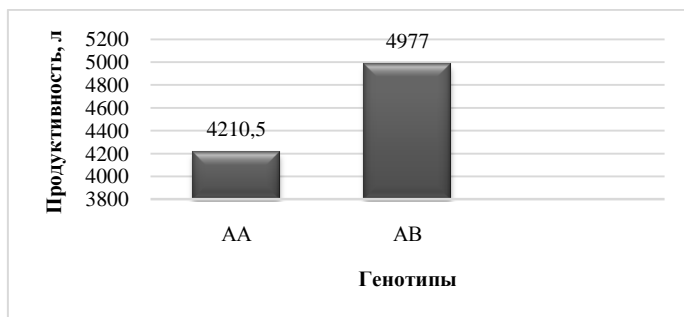


Рисунок 4. – Продуктивность коров красной эстонской породы разных генотипов по β -CN

С точки зрения содержания жира наблюдается небольшое превосходство – на 0,07% гетерозиготного генотипа АВ над генотипом АА (рисунок 5).

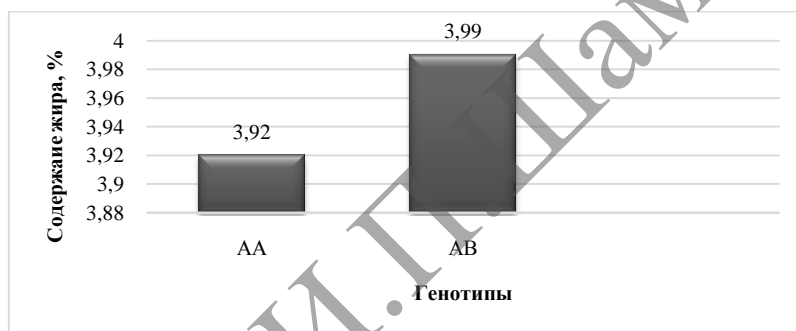


Рисунок 5. – Содержание жира в молоке коров красной эстонской породы разных генотипов по β -CN

По количеству жира также гетерозиготные животные β -CN^A β -CN^B превышали (192,18 кг), показатель жира гомозиготных животных β -CN^A β -CN^A на 28,5 кг (рисунок 6).

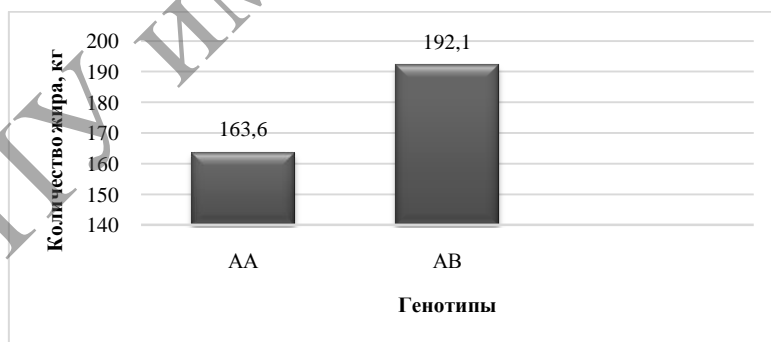


Рисунок 6. – Выход молочного жира в молоке коров красной эстонской породы разных генотипов по β -CN

Каппа-казеин, в отличие от α _{s1} и β -казеинов, содержит только один фосфосериновый остаток, поэтому практически не присоединяет ионы калия, то есть не теряет растворимость в их присутствии. При ассоциации с α _{s1} и β -казеинами к-казеин образует стабильные мицеллы и таким образом защищает последние от осаждения ионами кальция [5].

В составе локуса каппа-казеина в исследуемом молоке установлено присутствие двух аллелей κ -CN^A и κ -CN^B с частотой – 0,9516 для типа А и 0,0484 – для типа В. Генетическая структура популяции в данном локусе представлена в таблице 3.

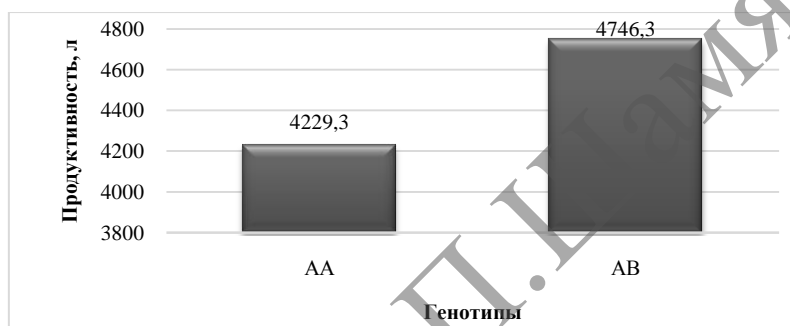
Таблица 3. – Распределение популяции коров красной эстонской породы по типу $k-CN$

Генотипы	Количество животных	χ^2
AA	28(28,07)*	0,00
AB	3(2,86)	0,01
Итого	31(31)	0,01

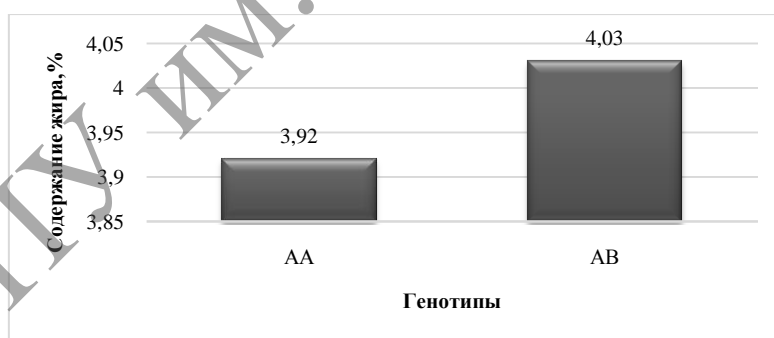
Как видно, популяцию в основном составили гомозиготные особи AA . В связи с тем, что аллель B имел низкую частоту, гомозиготный генотип BB в наших исследованиях не был обнаружен. Это объясняется обеднением генофонда породы, процесс который усугубляется с каждым поколением животных.

Локус $k-CN$ взаимосвязан с количеством надоенного молока, содержанием жира и выходом молочного жира.

Продуктивность за одну лактацию у гетерозиготных коров $k-CN^A k-CN^B$ красной эстонской породы выше (4746,3 л молока), чем у гомозигот $k-CN^A k-CN^A$ (рисунок 7).

Рисунок 7. – Продуктивность коров красной эстонской породы разных генотипов по $k-CN$

Среднее содержание жира оказалось выше также у гетерозиготных особей – 4,03%, показывая превосходство на 0,11% по сравнению с гомозиготными особями, у которых этот показатель составил 3,92% (рисунок 8).

Рисунок 8. – Содержание жира в молоке коров красной эстонской породы разных генотипов по $k-CN$

Преимущественным оказался гетерозиготный генотип и по выходу молочного жира на 25,5 кг (рисунок 9).

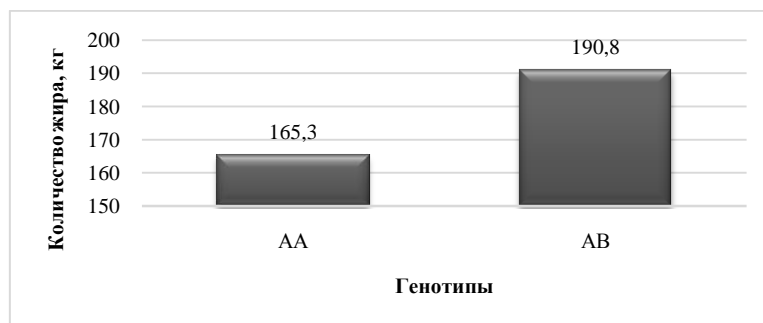


Рисунок 9. – Выход молочного жира в молоке коров красной эстонской породы разных генотипов по β -CN

Бета-лактоглобулины входят в состав молока всех животных, в составе коровьего молока на их долю приходится около 10% от общего количества белков. Содержит много сульфгидрильных групп. При нагревании молока часть SH-групп отщепляется в виде SH₂, что дает кипяченому молоку специфический запах. Последовательность аминокислот и трехмерная структура показывают, что бета-лактоглобулин относится к группе липокалинов – группа транспортных белков с характерной вторичной структурой. Они содержат 8 антипараллельных пептидных последовательностей на основе бета-складчатой структуры, которые формируют цилиндр. Такой «цилиндр» содержит внутри лиганд-связывающий участок [6].

В изученной популяции коров в данном локусе было обнаружено два аллельных варианта гена β -LG^A и β -LG^B, с частотами 0,1290 и 0,8710 соответственно, и три генотипа, представленные в следующей таблице.

Таблица 4. – Распределение популяции коров красной эстонской породы по типу β -LG

Генотипы	Количество животных	χ^2
AA	3(0,6)*	9,6
AB	2(6,96)	3,53
BB	26(23,52)	6,01
Итого	31(31)	19,14

Из данных, представленных в таблице 4, видно, что 3 особи (9,67%) имели гомозиготный генотип AA, 2 особи (6,45%) гетерозиготный генотип AB и 26 особей – гомозиготный BB (83,87%). Проверка генетической гипотезы методом χ^2 показала генетическое равновесие в стаде.

Анализ влияния локуса β -LG на молочную продуктивность коров красной эстонской породы показал, что более высокой производительностью обладают животные с гомозиготным генотипом β -LG^B β -LG^B – 4303 л (рисунок 10).



Рисунок 10. – Продуктивность коров красной эстонской породы разных генотипов по β -LG

Наиболее выгодным по содержанию жира в молоке является гомозиготный генотип по аллелю A (4,08%), который превосходил гомозиготный генотип по аллелю B на 0,18% (рисунок 11).



Рисунок 11. – Содержание жира в молоке коров красной эстонской породы разных генотипов по β -LG

По выходу молочного жира у коров генотип β -LG^A β -LG^A оказался преимущественным – 169,3 кг и на 1,9 кг превышал животных генотипа β -LG^B β -LG^B (рисунок 12).

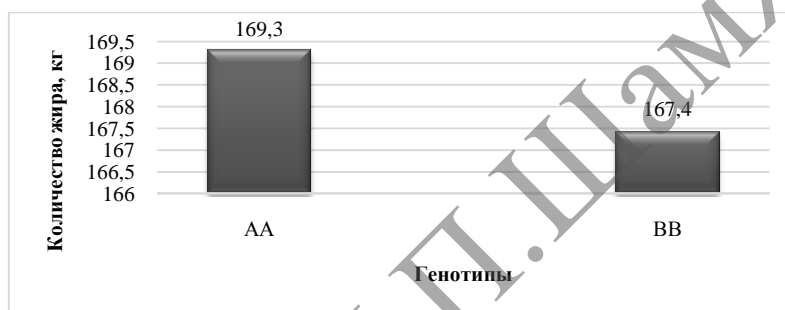


Рисунок 12. – Выход молочного жира в молоке коров красной эстонской породы разных генотипов по β -LG

Использование локуса β -LG в качестве генетического маркера позволяет подобрать адекватные методы отбора по генотипу. Так, полученные результаты показывают преимущество гаплотипа BB по удою молока. Для повышения жирности молока желателен генотип β -LG^A β -LG^A.

Таким образом, отбор коров (быков-производителей) с эффективными аллелями вариантов генов α S1-CN, β -CN, κ -CN, β -LG позволит получить молоко с заданными технологическими свойствами.

Выводы

1. В результате проведенных исследований обнаружен полиморфизм в локусах α S1-CN, β -CN, κ -CN, β -LG. В изученных локусах определена частота аллелей:

в локусе α S1-CN установлено присутствие 2 аллелей, с наибольшей частотой для α S1-CN^B (0,9354);

в локусе β -CN установлено присутствие 2 аллелей, с наибольшей частотой для β -CN^B (0,9193);

в локусе κ -CN установлено присутствие 2 аллелей, с наибольшей частотой для κ -CN^A (0,9516);

в локусе β -LG установлено присутствие 2 аллелей, с наибольшей частотой для β -LG^B (0,8710).

2. Анализируя влияние генетического полиморфизма локусов QTL на молочную продуктивность коров красной эстонской породы, можно сделать вывод, что для отбора животных по таким качествам, как количество надоенного молока, содержание жира и выход молочного жира, выгодными являются гетерозиготные генотипы в локусах α S1-CN, β -CN, κ -CN. В локусе β -LG желателен гомозиготный генотип BB, тогда как по содержанию жира генотип AA.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Грибанова, Ж. А. Экономическая эффективность использования коров с различными генотипами по локусам генов молочных белков / Ж. А. Грибанова // Разведение, селекция, генетика, биотехнология и воспроизводство сельскохозяйственных животных: тез. докл. междунар. науч.-практ. конф., Жодино, 14–15 сент. 2011 г. / РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»; ред.: И. П. Шейко [и др.]. – Жодино, 2011. – С. 33–35.

2. Баршинова, А. В. Полиморфизм гена каппа-казеина и его связь с хозяйственно-полезными признаками скота красно-пестрой породы : дис. ... канд. биол. наук : 06.02.01 / А. В. Баршинова. – п. Лесные Поляны Моск. обл., 2005. – 128 л.
3. Smithies, O. Zone electrophoresis in starch gels / O. Smithies // Biochem. J. – 1955. – Vol. 61. – P. 629.
4. Жебровский, Л. С. Изучение состава молочных белков / Л. С. Жебровский. – Л. : Колос, 1979. – С. 38–41.
5. Дымар, О. В. Производство казеина: основы теории и практики / О. В. Дымар, С. И. Чаевский. – Минск : РУП «Институт мясо-молочной промышленности», 2007. – 70 с.
6. Хабибрахманова, Я. А. Полиморфизм генов молочных белков и гормонов крупного рогатого скота : дис. ... канд. биол. наук : 06.02.01 / Я. А. Хабибрахманова. – М., 2009. – 123 с.

Поступила в редакцию 20.01.16

E-mail: lupolovt@tut.by

T. A. Lupolov, V. S. Petcu, E. Yu. Guminskaya, A. V. Makarova

GENETIC POLYMORPHISM OF *QTL* LOCI AND THEIR INFLUENCE ON DAIRY EFFICIENCY OF COWS' RED ESTONIAN BREED

The article provides information on the genetic loci *QTL* polymorphism and their relationship with cows' productivity. Allele pool of population of lactoprotein α S1-CN, β -CN, κ -CN β -LG is detected. There is loci polymorphism, the lowest frequency of 0,048 was established for κ -CN type B. Existence of interrelations of loci with amount of the obtained milk is established by the content in it of fat and an exit of milk fat. Thus, for increase of fat content of milk the genotype β -LG^A β -LG^A (4,08%) is desirable, individuals with AA genotype surpassed the contemporaries with β -LG^B β -LG^B genotype on 1,91 kg in amount of fat (169,3 g). As a marker for selection of animals on dairy efficiency can serve the locus β -CN. In our research the highest efficiency have got individuals with a genotype β -CN^A β -CN^B possessed (49771). Identified polymorphisms can be used as a biochemical test for the state of the breed gene pool and also for forecasting on their basis productive qualities of animals.

Keywords: genotype, genetic polymorphism, *QTL*, lactoprotein, estonian red breed cows, productivity.