



УДК 636.2.034:575.113

Г.М. ГОНЧАРЕНКО¹, доктор биологических наук, заведующая лабораторией,
Н.Б. ГРИШИНА¹, кандидат биологических наук, научный сотрудник,
О.В. ПЛАХИНА¹, младший научный сотрудник,
Т.К. БЕКСЕИТОВ², доктор сельскохозяйственных наук, профессор, декан

¹Сибирский научно-исследовательский институт животноводства СФНЦА РАН

630501, Россия, Новосибирская область, пос. Краснообск

e-mail: sibnptij@ngs.ru

²Павлодарский государственный университет им. С. Торайгырова

140008, Казахстан, Павлодар, ул. Ломова, 64

e-mail: atf_psu@mail.ru

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА CSN3 СИММЕНТАЛЬСКОЙ ПОРОДЫ СКОТА РАЗНЫХ ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОН И СВЯЗЬ ГЕНОТИПОВ С ПРОДУКТИВНОСТЬЮ*

Приведены результаты сравнительного анализа полиморфизма гена *k*-казеина в стадах коров симментальской породы из разных эколого-географических зон. Степная зона представлена хозяйствами ЗАО «Ивановское» Новосибирской области и ТОО «Галицкое» Республики Казахстан; горная – ФГУП «Алтайское экспериментальное сельское хозяйство» Республики Алтай. Методом ПЦР в лаборатории биотехнологий Сибирского научно-исследовательского института животноводства СФНЦА РАН и лаборатории «Биотехнология животных» Павлодарского государственного университета были выявлены генотипы гена *k*-казеина, определена частота их встречаемости в разных стадах и сопряженность с молочной продуктивностью. Исследования показали, что для симменталов степной зоны Республики Казахстан характерна повышенная встречаемость генотипа ВВ гена CSN3 на 11,7–13,1 %, В аллеля на 0,142–0,157 и пониженная на 16,3–17,7 % частота генотипа АА в сравнении с животными горной зоны Республики Алтай и степной Новосибирской области. Симменталы степной зоны имели практически одинаковый удой: 5300–5500 кг, стадо горной зоны заметно уступало им по молочной продуктивности. Но молоко коров симменталов горной местности и степной Республики Казахстан отличалось повышенным на 0,43–0,68 % содержанием жира в сравнении с коровами степной зоны Новосибирской области. У животных горной местности содержание белка на 0,03–0,12 % ниже, чем у симменталов из степной зоны. У коров с разными генотипами гена *k*-казеина в пределах одного стада существенных различий по удою, содержанию жира и белка не выявлено.

Ключевые слова: корова, разведение, симментальская порода, ген *k*-казеин (CSN3), полиморфизм, продуктивность, молочный жир, молочный белок.

Актуальность использования генетических маркеров в селекции сельскохозяйственных животных в настоящее время ни у кого не вызывает сомнения, поскольку геномная информация интегрируется в официально

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ, номер проекта 16-44-040066 «Изучение влияния эколого-географических условий на формирование генотипических особенностей животных с использованием ДНК-маркеров и определение их связи с хозяйственно ценными признаками».

принятые показатели селекции [1]. Племенные быки должны иметь генетический паспорт по группам крови или микросателлитам, генотипам гена по *k*-казеину, генотипам гена BLAD, SVM (закон РФ «О племенном животноводстве» № 123-ФЗ от 03.08 1995 г.). Изучение генотипической структуры отдельного стада, выявление животных с их желательными вариантами, уменьшение генетического груза в популяциях путем устранения производителей с летальными мутациями позволит значительно увеличить эффективность селекционного процесса.

В решении главных задач животноводства (повышение продуктивности коров, улучшение качественных показателей молока – содержание жира, белка и других компонентов) большое значение имеют гены основных белков (лактальбумины и казеины), гормонов, стимулирующих их экспрессию, а также гены, продукты которых регулируют обмен протеинов и липидов в организме [2, 3]. Особое место занимают гены *k*-казеина [4–12].

Показано, что наилучшие технологические свойства молока при производстве сыра обеспечивает генотип ВВ или АВ гена *k*-казеина [4, 6, 7]. Его встречаемость в зависимости от породы существенно различается [5, 8–11]. Так, более высокая частота желательных генотипов АВ и ВВ наблюдается в стадах симментальской породы в сравнении с черно-пестрой и красной степной [13]. Сравнительная оценка сыропригодности молока коров разных пород Алтайского края показала, что по основным качественным показателям для приготовления твердых сыров симментальская порода имеет преимущества в сравнении с черно-пестрой, красной степной и айр-ширской [4]. Аналогичные данные получены и при изучении технологических свойств молока холмогорской. У коров с генотипом ВВ гена *k*-казеина оно имеет лучшую свертываемость и более высокий выход творога (на 6,1–8,8 %) и брынзы (на 5,1–15,0 %) по сравнению с животными других генотипов. Молочные продукты, полученные от коров с генотипом ВВ, имели лучшие вкусовые качества [14].

Несмотря на то что в большинстве работ выявлено приоритетное положение генотипа ВВ *k*-казеина в показателях продуктивности коров и качественного состава молока (содержание жира и белка), а также его более высокой сыропригодности, имеются сообщения о том, что коровы с генотипом АА (голландская порода) имели более высокие показатели по удою и содержанию белка в молоке [15]. Известны исследования, по данным которых коровы красно-пестрой породы с АА генотипом гена *k*-казеина также имели более высокий удой, но отличались низкими показателями жира и белка [16]. Исследуемое стадо на 50 % представлено животными с этим генотипом, в то время как численность носителей ВВ генотипа составляет всего 7,6 %.

Цель работы – изучение полиморфизма гена *k*-казеина в стадах симментальской породы разных эколого-географических зон и его влияние на молочную продуктивность и качественный состав молока.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на коровах симментальской породы ($n = 590$) из степной зоны, представленной хозяйствами ЗАО «Ивановское» Новосибирской области и ТОО «Галицкое» Республики Казахстан, и горной зоны, которую представляло ФГУП «Алтайское экспериментальное сельское хо-

зйство» («АЭСХ») Республики Алтай. Выявление полиморфизма гена *k*-казеина методом ПЦР-анализа проводилось в лаборатории биотехнологий Сибирского научно-исследовательского и проектно-технологического института животноводства (СибНИПТИЖ) и лаборатории «Биотехнология животных» Павлодарского государственного университета им. С. Торайгырова. ДНК выделяли из крови консервированной ЭДТА КЗ с использованием набора для экстракции из клинического материала «Ампли Прайм ДНК-сорб-В» по прописи изготовителя ООО «НекстБио». ДНК-типирование коров по генам *k*-казеина было проведено в соответствии с «Рекомендациями по геномной оценке крупного рогатого скота» [17]. Амплификацию проводили на термоциклере «Терцик» компании «ДНК-технология» (Россия) в определенном режиме. Первый цикл: 94 °С – 5 мин; последующие 35 циклов: 94 °С – 1 мин, 57 °С – 1 мин, 72 °С – 1 мин. Полученные продукты амплификации гена *k*-казеина обрабатывали эндонуклеазами рестрикции Hind III в течение 20 ч при соблюдении условий, указанных фирмой-производителем ООО «СибЭнзим» (Новосибирск). Размер продуктов рестрикции фрагмента установлен методом электрофореза в 2%-м агарозном геле.

Удой, содержание жира и белка в молоке оценивали за 305 дней лактации по данным зоотехнического учета. Статистическую обработку результатов проводили в программе Microsoft Excel. Достоверность попарных различий между средними значениями признаков оценивали с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Генотипическая структура анализируемых стад разных регионов по гену CSN3 существенно различается (табл. 1). Стадо ТОО «Галицкое» характеризуется частотой встречаемости генотипа ВВ гена CSN3 на 11,8–13,2 % выше и генотипа АА на 16,5–17,9 % ниже ($p < 0,01$), чем в ЗАО «Ивановское» и ФГУП «АЭСХ», где частота этого генотипа находится на одном уровне.

По соотношению частот аллелей А и В коровы ЗАО «Ивановское» и ФГУП «АЭСХ» также существенно отличаются от ТОО «Галицкое», где встречаемость аллеля В выше на 0,142–0,157 ($p < 0,01$, $p < 0,001$) (табл. 2).

Не установлено статистически значимого отклонения эмпирического распределения частот генотипов гена *k*-казеина от распределения генотипов по Харди-Вайнбергу.

Более высокая концентрация генотипа ВВ гена *k*-казеина в стаде ТОО «Галицкое» обусловлена особенностями его формирования, в процессе которого использовалось семя высокопродуктивных зарубежных быков мон-

Таблица 1
Полиморфизм генов BCSN3 в стадах коров симментальской породы разных регионов, %

Хозяйство	<i>n</i>	Генотип		
		АА	АВ	ВВ
ЗАО «Ивановское»	254	44,1 ± 3,1	43,3 ± 3,1	12,6 ± 2,1
ФГУП «АЭСХ»	233	45,5 ± 3,3	43,3 ± 3,3	11,2 ± 2,1
ТОО «Галицкое»	103	27,6 ± 4,4	48,0 ± 4,9	24,4 ± 4,2

Таблица 2

Частота аллелей гена BCSN3 в стадах симментальской породы

Хозяйство	n	Алель		
		А	В	χ^2
ЗАО «Ивановское»	254	0,657 $\pm$ 0,03	0,343 $\pm$ 0,03	0,376
ФГУП «АЭСХ»	233	0,672 $\pm$ 0,03	0,328 $\pm$ 0,03	0,068
ТОО «Галицкое»	103	0,515 $\pm$ 0,05	0,485 $\pm$ 0,05	0,085

бельярдской, немецкой красно-пестрой, голштино-фризской и немецкой пятнистой пород.

Исследования отдельных стад симменталов в Республике Алтай показали некоторые различия полиморфизма этого гена. Так, в СПК КПЗ «Амурский» желательный, с точки зрения сыропригодности молока, генотип ВВ выявлен у 8,0 %, в ОПХ «Чуйское» – у 7,2 % животных [18]. Наиболее благоприятное соотношение генотипов этого гена было получено в ООО «Оленевод» Республики Алтай: АА – 34,2, АВ – 48,1, ВВ – 17,7 %, где для улучшения местных симменталов также использовали быков красной голштинской породы, но имеющих генотип ВВ или АВ *k*-казеина. В ЗАО «Ивановское» стадо чистопородных симменталов характеризовалось на 6 % более высокой частотой генотипа ВВ гена *k*-казеина в сравнении с животными той же породы, но скрещенными с красными голштинами [19].

При изучении сопряженности генотипов с молочной продуктивностью существенных различий не выявлено (табл. 3).

Таблица 3

Молочная продуктивность коров симментальской породы с разными генотипами гена *k*-казеина за 305 дней лактации

Генотип	n	Удой, кг	Жир, %	Белок, %
ЗАО «Ивановское»				
АА	111	5364,8 $\pm$ 87,5	3,64 $\pm$ 0,01	3,16 $\pm$ 0,005
АВ	108	5412,6 $\pm$ 74,4	3,63 $\pm$ 0,01	3,16 $\pm$ 0,005
ВВ	32	5498,7 $\pm$ 153,0	3,65 $\pm$ 0,03	3,15 $\pm$ 0,009
ФГУП «АЭСХ»				
АА	109	3699,6 $\pm$ 76,93	4,20 $\pm$ 0,02	3,16 $\pm$ 0,01
АВ	96	3602,5 $\pm$ 85,41	4,20 $\pm$ 0,02	3,15 $\pm$ 0,01
ВВ	27	3854,0 $\pm$ 144,83	4,15 $\pm$ 0,05	3,14 $\pm$ 0,01
ТОО «Галицкое»				
АА	28	5356,7 $\pm$ 219,65	4,10 $\pm$ 0,11	3,20 $\pm$ 0,03
АВ	50	5387,8 $\pm$ 248,32	4,10 $\pm$ 0,10	3,25 $\pm$ 0,05
ВВ	25	5517,1 $\pm$ 256,17	4,30 $\pm$ 0,15	3,26 $\pm$ 0,06

Коровы симментальской породы Республики Казахстан и Новосибирской области имеют практически одинаковый удой 5300–5500 кг, а стадо ФГУП «АЭСХ» заметно уступает им по молочной продуктивности. При этом коровы с генотипом ВВ гена *k*-казеина во всех стадах имеют небольшое преимущество перед сверстницами других генотипов. В то же время молоко коров стад ФГУП «АЭСХ» и ТОО «Галицкое» имеет более высокую жирность в сравнении с симменталами ЗАО «Ивановское». Превышение составляет 0,43–0,68 % ($p < 0,001$). Однако животные ФГУП «АЭСХ» уступают по содержанию белка на 0,03–0,12 % ($p < 0,001$, $p < 0,01$) в молоке стадам из других зон. Следует отметить, что у коров с разными генотипами *k*-казеина в пределах одного стада существенных различий по удою, содержанию жира и белка не выявлено.

Причину более низкого удоя коров стада ФГУП «АЭСХ» можно объяснить не только низким генетическим потенциалом животных и недостаточным уровнем кормления в зимний период, но и специфическими условиями горной местности. Но следует учитывать, что Горный Алтай – это зона сыроделия, поэтому очень важен показатель сыропригодности молока. По нашим данным [18], оно отвечает требованиям варки сыров твердых сортов, при этом отмечено, что молоко коров с генотипом ВВ гена *k*-казеина по показателям свертываемости, количеству отделяемой жидкости характеризуется как самое лучшее.

ВЫВОДЫ

Исследования показали, что стада симменталов разных эколого-географических зон: степной (Новосибирская область, Республика Казахстан) и горной (Республика Алтай) – имели существенные различия по полиморфизму гена *k*-казеина. В стаде коров степной зоны Казахстана (ТОО «Галицкое») частота желательного генотипа ВВ гена *k*-казеина на 11,8–13,2 %, и соответственно аллеля В на 0,142–0,157 % выше, чем в стадах двух других сравниваемых хозяйств ($p < 0,01$, $p < 0,001$).

Молоко коров из хозяйств горной местности Алтая и степной Казахстана характеризовалось более высокой жирностью в сравнении с данным показателем у симменталов степной зоны из хозяйства Новосибирской области (ЗАО «Ивановское»). Превышение составило 0,43–0,68 % ($p < 0,001$). Однако животные горной зоны Алтая уступали по содержанию белка в молоке на 0,03–0,12 % ($p < 0,001$, $p < 0,01$) стадам двух других хозяйств степной зоны. В пределах одного стада существенных различий по удою, содержанию жира и белка у коров с разными генотипами гена *k*-казеина не выявлено.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Букаров Н.Г., Силкина С.Ф., Белов Д.Е. И еще раз о маркерной селекции в скотоводстве // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. – 2012. – Вып. 1–1, т. 3. – С. 61–62.
2. Валитов Ф.Р., Долматова И.Ю., Соловьева Ю.А. Ассоциация комплексных генотипов по генам альфа-лактальбумина и бета-лактоглобулина с молочной продуктивностью и технологическими свойствами молока // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2014. – № 3. – С. 73–80.

3. Калашникова Л.А., Грашин В.А., Грашин А.А. Исследование полиморфизма генов молочных белков у крупного рогатого скота черно-пестрой породы Самарского типа // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2015. – № 4. – С. 18–28.
4. Остроумова Т.А., Иванова И.В. Влияние пород скота на состав молока и производства // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – № 3. – С. 71–74.
5. Чижова Л.Н. Результаты генотипирования молочного скота по гену *k*-казеина // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства, 2013 – Т. 2, № 6 (1), – С. 101–105.
6. Иванов В., Марзанов Н., Саморуков Ю. Порода скота и качество сыра // Животноводство России. – 2015. – № 10. – С. 45–50.
7. Лоретец О.Г., Матушкина Е.В. Влияние генотипа каппа-казеина на технологические свойства молока // Аграрный вестник Урала. – 2014. – № 3 (121). – С. 23–26.
8. Riaz M.N., Malik N.A., Nasreen F.A. et. al. Molecular marker assisted study of kappa-casein gene in Nili-Ravi (buffalo) breed of Pakistan // Pakistan Veterinary. – 2008. – № 28(3). – P. 103–106.
9. Riaz M.N. Genetic polymorphism of bovine hormone (somatotropin), kappa-casein and beta-lactoglobulin genes // A dissertation submitted for partial fulfillment of the degree of doctor of philosophy of biotechnology School of Biotechnology, National Institute for Biotechnology and Genetic Engineering (NIBGE), Faisalabad and Quaid-Azam University, Islamabad, Pakistan. – 2013. – 157 p.
10. Долматова И.Ю., Валитов Ф.Р. Оценка генетического потенциала крупного рогатого скота по маркерным генам // Вестн. Башкирского ун-та. – 2015. – Т. 20, № 3. – С. 850–853.
11. Mitra A., Schlee P., Krause I. et. al. Kappa-casein polymorphism in the Indian dairy cattle and buffalo: A new genetic variant in buffalo // Anim. Biotech. – 1998. – № 9(2). – P. 81–87.
12. Бексегов Т.К., Джаксыбаева Г.Г., Атейхан Б. и др. Молочная продуктивность коров симментальской породы с различными генотипами по гену каппа-казеина // Вестник государственного университета им. Шакарима. – Семей, 2016. – № 2(74). – С. 209–212.
13. Гончаренко Г.М., Горячева Т.С., Рудишина Н.М. и др. Сравнительная оценка сыропригодности молока симментальской и красной степной пород с учетом генотипов гена *k*-казеина // Вестн. Алтайского гос. ун-та. – 2013. – № 12(10). – С. 113–117.
14. Глотова Т.Н. Молочная продуктивность и качество молока холмогорской породы разных генотипов по каппа-казеину и бета-лактоглобулину: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Рязань, 2007. – 24 с.
15. Джапаридзе Г.М., Хабибрахманова Я.А., Павлова И.Ю. и др. Полиморфизм генов молочных белков у голштинских коров канадской селекции // Инновационное развитие животноводства и кормопроизводства в Российской Федерации. – Тверь: Тверская ГСХА, 2013. – С. 61–64.
16. Овсянникова Г.В., Бородин Е.Ю. Полиморфизм гена каппа-казеина и его связь с технологическими свойствами молока у красно-пестрого скота // Приоритетные направления развития пищевой индустрии: сб. науч. статей. – Ставрополь, 2016. – С. 459–462.
17. Калашникова Л.А., Хабибрахманова Я.А., Павлова И.Ю. и др. Рекомендации по геномной оценке крупного рогатого скота. – Лесные Поляны: ВНИИплем, 2015. – 33 с.
18. Гончаренко Г.М., Горячева Т.С., Медведева Н.С. Полиморфизм гена *k*-казеина и технологические свойства молока у коров симментальской породы в Республике Алтай // С.-х. биология. – 2013. – № 6. – С. 123–126.
19. Гончаренко Г.М., Гришина Н.Б., Герасимчук Л.Д. и др. Влияние голштинизации симментальской породы на изменение полиморфизма генов CSN3, BLG и их связь с продуктивностью и сыропригодностью // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2016. – № 4. – С. 44–53.

Поступила в редакцию 25.10.2016

G.M. GONCHARENKO¹, Doctor of Science in Biology, Laboratory Head,
N.B. GRISHINA¹, Candidate of Science in Biology, Researcher,
O.V. PLAKHINA¹, Junior Researcher,
T.K. BEKSEITOV², Doctor of Science in Agriculture, Professor, Dean

¹*Siberian Research Institute of Animal Husbandry, SFSCA RAS*

Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia

e-mail: sibnptij@ngs.ru

²*S. Toraigyrov Pavlodar State University*

64, Lomova St, Pavlodar, 140008, Kazakhstan

e-mail: atf_psu@mail.ru

POLYMORPHISM IN THE GENE CSN3 IN SIMMENTAL CATTLE FROM DIFFERENT ECO-GEOGRAPHICAL ZONES AND RELATIONSHIP BETWEEN GENOTYPE AND PRODUCTIVITY

Results are given from comparative analysis of polymorphism in the k-casein gene CSN3 in Simmental herds from different eco-geographical zones. The steppe zone is represented by the JSC “Ivanovskoe”, Novosibirsk Region, and the LP “Galitskoe”, Republic of Kazakhstan; the highlands by the Altai Agricultural Experiment Farm. Studies were conducted at the biotechnology laboratory of the Siberian Research Institute of Animal Husbandry, SFSCA RAS, and at the animal biotechnology laboratory of the Pavlodar State University. The genotypes of the k-casein gene were identified with the PCR method, the genotype frequencies in different herds and correlations between genotype and milk production performance were determined. The studies have shown that the Simmentals from steppe Kazakhstan are characterized by higher frequency of the CSN3 BB genotype by 11.7–13.1%, of the B allele by 0.142–0.157%, and by lower frequency of the AA genotype by 16.3–17.7%, as compared to animals from the highlands of Altai Territory and steppe areas of Novosibirsk Region. The Simmentals from both steppe areas had nearly equal milk yields of 5300–5500 kg, while the herd from the highlands noticeably yielded to them in milk production performance. But milk of Simmental cows from the highlands and the steppe areas of Kazakhstan was characterized by higher fat content by 0.43–0.68% compared to the cows from the steppe areas of Novosibirsk Region. The animals from the highlands had lower milk protein content by 0.03–0.12% compared to Simmentals from the steppe zone. No significant differences in milk yield, fat and protein content have been seen in cows with different genotypes of the k-casein gene within the same herd.

Keywords: Simmental, genotype, k-casein (CSN3) gene, eco-geographical zones, milk yield, fat and protein content.