

УДК 636.2.082.2:636.034(476)

ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ СОМАТОТРОПИНА (GH)
И ДИАЦИЛГЛИЦЕРОЛ-О-АЦИЛТРАНСФЕРАЗЫ 1 (DGAT1)
НА ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КОРОВ
ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ МОЛОЧНОГО СКОТА
ОТЕЧЕСТВЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ

А. Н. Михалюк

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

Ключевые слова: ген соматотропина (GH), ген диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1), молочная продуктивность, крупный рогатый скот.

Аннотация. Результаты проведенных исследований по изучению влияния генов соматотропина (GH) и диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1) на показатели молочной продуктивности коров голштинской породы молочного скота отечественной селекции показали, что по удою за 305 дней лактации в большинстве случаев животные с генотипом GH^{LV} превосходили своих сверстниц GH^{LL} и GH^{VV} на 2,5-6,6 %. По жирно- и белковомолочности гетерозиготные первотелки GH^{LV} превосходили своих сверстниц двух других генотипов, а по второй и третьей лактациям более высокие качественные показатели имели гомозиготные особи по аллелям GH^V и GH^L в сравнении с их гетерозиготными сверстницами. Оценка показателей молочной продуктивности по гену диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1) по трем лактациям свидетельствует о том, что с повышением порядкового номера лактации показатели молочной продуктивности возрастают.

INFLUENCE OF GH GENES AND DGAT 1 ON DAIRY
PRODUCTIVITY INDICATORS OF HIGHLY STAINED
BELARUSIAN BLACK-MOTLEY BREED

A. N. Mikhalyuk

EI «Grodno state agrarian university»
Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

Key words: somatotrophin (GH) gene, diacylglycerol-O-acyltransferase (DGAT 1) gene, dairy productivity, cattle.

Summary. The results of studies conducted to study the effects of somatotropin (GH) and diacylglycerol-O-acyltransferase 1 (DGAT1) genes on the indicators of dairy products of Holstein dairy breed cows of domestic breeding showed that by

weight for 305 days of lactation, in most cases, animals with the GH^{LV} genotype were superior. In terms of fat-and-white dressing, heterozygous first-graders of GH^{LV} outperformed their peers of the other two genotypes, and in the second and third lactations, homo-zygous individuals had higher qualitative indicators on the alleles of GH^V and GH^L in comparison with their hetero-zygote checkers. Evaluation of milk product indices by diacylglycerol-O-acyltransferase 1 (DGAT1) gene on three lactations indicates that milk productivity indices increase with elevation of lactation sequence number.

(Поступила в редакцию 01.06.2021 г.)

Введение. Развитие молекулярно-генетических методов исследования позволяет применять методы ДНК-тестирования для оценки динамики популяционных генофондов крупного рогатого скота. Проведение селекции животных на уровне ДНК имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными методами [1]. Использование «генов-кандидатов» хозяйственно полезных признаков в совокупности с традиционными методами подбора и отбора животных позволит повысить эффективность работы в области геномного усовершенствования крупного рогатого скота. Тем самым проведение маркер-зависимой селекции позволит вывести селекционно-племенную работу на новый этап развития. Генетические варианты молочных белков и гормонов являются генами-маркерами молочной продуктивности и качества молока [2].

Цель работы. В этой связи целью работы явилось изучение влияния генов соматотропина (GH) и диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1) на показатели молочной продуктивности коров голштинской породы молочного скота отечественной селекции.

Материал и методика исследований. Объектом исследований являлись крупный рогатый скот и биологический материал (ушной выщип) от коров голштинской породы молочного скота отечественной селекции, содержащихся в СПК им. И. П. Сенько Гродненского района в количестве 105 проб. Генотипирование животных по генам соматотропина (GH) и диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT 1) проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) в отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий». Ядерную ДНК выделяли перхлоратным методом. Основные растворы для выделения ДНК, амплификации готовили по Т. Маниатису, Э. Фрич, Дж. Сэмбуку [3].

Для амплификации участков генов GH и DGAT1 использовали праймеры:

GH 1: 5' CCG TGT CTA TGA GAA GC 3';

GH 2: 5' GTT CTT GAG CAG CGC GT 3'.

DGAT1 1: 5' CAC CAT CCT CTT CCT CAA GC 3'

DGAT1 2: 5' ATG CGG GAG TAG TCC ATG TC 3'

Реакционная смесь для проведения амплификации по генам соматотропина (GH) и диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT 1) состояла из:

Компоненты:	Концентрация на 1 пробу:
1 x Taq-буфер	1 x
50 mM MgCl ₂	2-5 mM
Смесь дНТФ	2-4 mM
Праймер 1	10-25 пМ
Праймер 2	10-25 пМ
Taq-полимераза	0,5-1,5 е. а.
ДНК	0,5-1 мкл
H ₂ O	до 25 мкл

ПЦР-программа GH: – 94°C, 4 мин; 35 циклов – 94°C, 45 с; 65°C, 45 с; 72°C, 45 с; достройка или финальная элонгация – 72°C, 7 мин. Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 2%-м агарозном геле при напряжении 120 В, 50-60 мин. Длина амплифицированного фрагмента гена GH составила 223 п. о. Для рестрикции амплифицированного участка гена GH применяли эндонуклеазу AluI. Реакцию проводили при температуре 37°C. Продукты рестрикции генов разделяли электрофоретически в 3%-м агарозном геле при напряжении 130 В, 50-60 мин, в 1 × TBE буфере. Визуализацию фрагментов проводили при УФ-свете на системе гель-документирования Gel Doc RX + (BIORAD) с использованием бромистого этидия. При расщеплении продуктов амплификации гена GH рестриктазой идентифицировались генотипы: GH^{LL} – 208 п. н.; GH^{LV} – 208/172/35 п. н.; GH^{VV} – 172/35 п. н. (рисунок 1).

ПЦР-программа DGAT1: – 94°C, 5 мин; 30 циклов – 94 С, 30 с; 59 С, 40 с; 72 С, 40 с; достройка или финальная элонгация – 72°C, 7 мин. Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 2%-м агарозном геле при напряжении 120 В, 50-60 мин. Длина амплифицированного фрагмента гена DGAT1 составила 411 п. о. Для рестрикции амплифицированного участка гена DGAT1 применяли эндонуклеазу AcoI. Реакцию проводили при температуре 37°C. Продукты рестрикции генов разделяли электрофоретически в 3%-м агарозном геле при напряжении 130 В, 50-60 мин, в 1 × TBE буфере. Визуализацию фрагментов проводили при УФ-свете на системе гель-документирования Gel Doc RX + (BIORAD) с использованием бромистого этидия. При расщеплении продуктов амплификации по

гену DGAT1 идентифицировался генотип: DGAT1^{KK} – фрагмент 411 п. н. (рисунок 2).

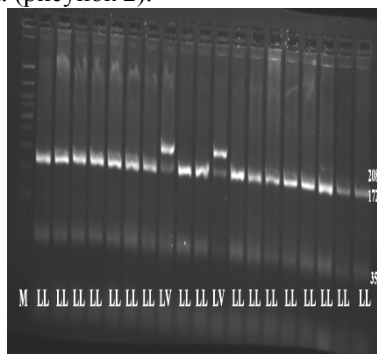


Рисунок 1 – Электрофореграмма рестрикционного анализа гена GH

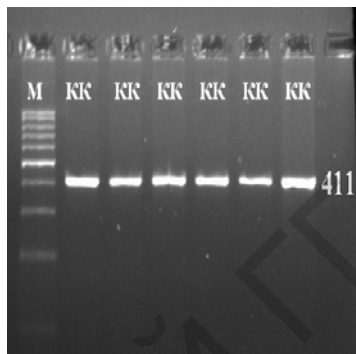


Рисунок 2 – Электрофореграмма рестрикционного анализа гена DGAT1

Для изучения молочной продуктивности подопытные животные голштинской породы молочного скота отечественной селекции были сгруппированы в зависимости от возраста: первотелки, коровы второго и третьего отелов. Молочную продуктивность коров определяли по результатам контрольных доений. В статистическую обработку включали показатели по животным, продолжительность лактации у которых была не менее 240 дней. У животных с различными генотипами по изучаемым генам учитывали удой, массовую долю жира и белка, выход молочного жира и белка за 305 дней лактации.

Селекционно-генетические параметры основных хозяйственно полезных признаков обработаны методом вариационной статистики с применением компьютерной техники и прикладных программ, входящих в стандартный пакет Microsoft Office.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенных исследований в популяции коров голштинской породы молочного скота отечественной селекции установлен полиморфизм гена соматотропина (GH), представленный двумя аллелями, – GH^L и GH^V, при этом идентифицировано три генотипа GH^{LL}, GH^{LV} и GH^{VV}. Среди опытных животных чаще встречались особи с генотипом GH^{LL} – 72 %, генотип GH^{LV} был у 23 %, а GH^{VV} – лишь у 5 % коров. В отношении гена диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1) результаты исследований показали, что все животные имели лишь один генотип – DGAT1^{KK}, т. е. по данному гену отсутствовал полиморфизм.

На следующем этапе исследований нами изучена взаимосвязь молочной продуктивности коров голштинской породы молочного скота

отечественной селекции с различными генотипами по генам соматотропина (GH) и диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1) (таблицы 1-3).

Анализ данных таблицы 1 свидетельствует о том, что более высокие показатели молочной продуктивности имели первотелки с генотипом GH^{LV}. Так, по удою за 305 дней лактации они превосходили первотелок с генотипами GH^{LL} и GH^{VV} на 2,5 %. По жирномолочности первотелки с генотипом GH^{LV} также превосходили своих сверстниц с генотипами GH^{LL} и GH^{VV} на 0,04 и 0,17 п. п. соответственно.

Таблица 1 – Молочная продуктивность первотелок с различными генотипами по генам соматотропина (GH) и диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1)

Показатели	Генотип			
	GH ^{LL}	GH ^{LV}	GH ^{VV}	DGAT1 ^{KK}
Удой за 305 дней лактации, кг	8141,40 ± 242,40	8346,90 ± 218,06	8140,20 ± 257,30	8243,32 ± 192,27
Жирномолочность, %	3,79 ± 0,04	3,83 ± 0,07*	3,66 ± 0,09	3,80 ± 0,034
Количество молочного жира, кг	308,97 ± 10,03	320,10 ± 11,10*	298,15 ± 13,02	313,60 ± 8,03
Белковомолочность, %	3,27 ± 0,018	3,30 ± 0,024	3,26 ± 0,036	3,25 ± 0,015
Количество молочного белка, кг	265,63 ± 7,68	267,10 ± 6,72	265,15 ± 9,63	267,85 ± 6,07

Примечание – * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

Количество молочного жира за 305 дней лактации также оказалось выше у первотелок с генотипом GH^{LV}, чем у сверстниц, за счет более высокого удоя и жирности молока. Аналогичная тенденция наблюдалась по показателям белковомолочности и количеству молочного белка. Так, массовая доля белка в молоке первотелок с генотипом GH^{LV} составила 3,30 ± 0,024 %, у первотелок GH^{LL} – 3,27 ± 0,018 % и GH^{VV} – 3,26 ± 0,036 % соответственно. Количество молочного белка в молоке первотелок генотипа GH^{LV} составило 267,10 ± 6,72 кг, что на 0,55 % выше, чем у первотелок с генотипом GH^{LL}, и на 0,73 %, чем у животных с генотипом GH^{VV}. Что касается гена DGAT1, то, как было отмечено выше, все опытные животные имели один генотип – DGAT1^{KK}, поэтому не представляется возможным оценить показатели молочной продуктивности в сравнительном аспекте с учетом генотипов. В этой связи сравнение проводили по показателям молочной продуктивности с учетом лактации.

Анализ данных таблицы 2 свидетельствует о том, что показатели молочной продуктивности коров по второй лактации отличаются от аналогичных показателей первотелок. Коровы второй лактации с генотипом GH^{LL} характеризуются более высокими показателями молочной продуктивности в сравнении с гомозиготными животными GH^{LV} и GH^{VV} .

Таблица 2 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по генам GH и $DGAT1$ по второй лактации

Показатели	Генотип			
	GH^{LL}	GH^{LV}	GH^{VV}	$DGAT1^{KK}$
Удой за 305 дней лактации, кг	9169,37 ± 232,68*	8879,20 ± 281,95	8766,50 ± 319,30	9074,44 ± 248,43**
Жирномолочность, %	3,85 ± 0,08*	3,67 ± 0,06	3,85 ± 0,09*	3,81 ± 0,07
Количество молочного жира, кг	355,95 ± 13,24**	324,40 ± 12,10	337,50 ± 13,02*	348,08 ± 10,69**
Белковомолочность, %	3,23 ± 0,03	3,17 ± 0,04	3,23 ± 0,05	3,21 ± 0,02
Количество молочного белка, кг	296,16 ± 11,91	282,40 ± 12,03	285,10 ± 12,32	291,96 ± 10,42**

Примечание – * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

Так, по удою за 305 дней лактации они превосходили коров с генотипом GH^{LV} на 3,2 % ($P < 0,05$), а коров с генотипом GH^{VV} – на 4,5 % ($P < 0,05$) соответственно. Что касается показателя жирномолочности, то гомозиготные коровы второй лактации GH^{LL} и GH^{VV} превосходили гетерозиготных животных с генотипом GH^{LV} на 0,18 п. п. По количеству молочного жира более высокие показатели также имели гомозиготные особи по аллелю GH^L . Они превосходили гомозиготных особей по аллелю GH^V на 5,4 % ($P < 0,05$), а гетерозиготных особей GH^{LV} – на 9,7 % ($P < 0,01$) соответственно.

Что касается показателя белковомолочности, то у коров с генотипами GH^{LL} и GH^{VV} он находился на одном уровне и составлял 3,23 %, что выше, чем у гетерозиготных животных GH^{LV} , на 0,06 п. п. Учитывая, что удой у коров с генотипом GH^{LL} был выше, чем у животных двух других генотипов, то и количество молочного белка в молоке у них также было выше и составило 296,16 ± 11,91 кг, в то время как у животных с генотипом GH^{LV} – 282,40 ± 12,03 кг, GH^{VV} – 285,10 ± 12,32 кг. По гену диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 ($DGAT1$) коровы второй лактации имели более высокие качественные показатели молока в сравнении с первотелками. Так, удой у коров второй лактации был выше, чем у первотелок, на 10,0 % ($P < 0,01$). По массовой доле жира и белка в молоке заметных различий между коровами второй лактации и первотелками не наблюдалось. Учитывая, что удой у коров второй лак-

тации был выше, чем у первотелок, а по массовой доле жира и белка в молоке особых различий не наблюдалось, то показатели количества молочного белка и жира также были выше у коров второй лактации в сравнении с первотелками на 10,9 % ($P < 0,01$) и на 9,0 % ($P < 0,01$) соответственно.

Анализ данных таблицы 3 свидетельствует о том, что показатели молочной продуктивности коров по третьей лактации несколько отличались от показателей молочной продуктивности коров по второй лактации.

Так, удой за 305 дней лактации был выше у особей с генотипом GH^{LV} , в сравнении с удоём коров с генотипами GH^{LL} и GH^{VV} , на 0,51 и 6,6 % ($P < 0,05$) соответственно. Вместе с тем по показателям жирномолочности и белкомолочности более высокие показатели имели коровы третьей лактации с генотипом GH^{VV} . За счет того, что удой был выше у коров с генотипом GH^{LV} при относительно высокой жирномолочности (3,79 %), то и количество молочного жира у них также оказалось выше, в сравнении с особями GH^{LL} , на 4,3 % ($P < 0,05$), а с животными генотипа GH^{VV} – на 2,2 % соответственно. По количеству молочного белка достоверных различий между животными трех генотипов не наблюдалось.

Таблица 3 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по генам GH и $DGAT1$ по третьей лактации

Показатели	Генотип			
	GH^{LL}	GH^{LV}	GH^{VV}	$DGAT1^{KK}$
Удой за 305 дней лактации, кг	9530,78 ± 263,81*	9580,14 ± 283,68*	8983,67 ± 307,98	9752,67 ± 348,15**
Жирномолочность, %	3,68 ± 0,09	3,79 ± 0,10	3,96 ± 0,10*	3,78 ± 0,09
Количество молочного жира, кг	348,67 ± 12,35	363,86 ± 13,18*	356,00 ± 12,07	366,92 ± 12,20
Белкомолочность, %	3,26 ± 0,03	3,23 ± 0,06	3,40 ± 0,07*	3,24 ± 0,03
Количество молочного белка, кг	310,00 ± 12,21	308,86 ± 13,48	305,33 ± 10,98	315,25 ± 12,04

Примечание – * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

По гену диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 ($DGAT1$) коровы третьей лактации имели более высокие качественные показатели молока в сравнении с животными второй лактации. Так, удой у коров третьей лактации был выше, чем у коров второй, на 7,4 % ($P < 0,01$). По массовой доле жира и белка в молоке достоверных различий между коровами третьей и второй лактаций не наблюдалось. Показатели количества молочного жира и белка также были выше у коров третьей лактации в сравнении с животными второй лактации.

Оценка показателей молочной продуктивности по гену диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1) по трем лактациям свидетельствует о том, что с повышением порядкового номера лактации показатели молочной продуктивности возрастают. Аналогичные результаты были получены ранее на коровах красной белорусской породной группы [4].

Заключение. Результаты проведенных исследований по изучению влияния генов соматотропина (GH) и диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1) на показатели молочной продуктивности коров голштинской породы молочного скота отечественной селекции показали, что по удою за 305 дней лактации в большинстве случаев животные с генотипом GH^{LV} превосходили своих сверстниц GH^{LL} и GH^{VV} на 2,5-6,6 %. По жирно- и белковомолочности гетерозиготные первотелки GH^{LV} превосходили своих сверстниц двух других генотипов, а по второй и третьей лактациям более высокие качественные показатели имели гомозиготные особи по аллелям GH^V и GH^L в сравнении с их гетерозиготными сверстницами. Оценка показателей молочной продуктивности по гену диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1) по трем лактациям свидетельствует о том, что с повышением порядкового номера лактации показатели молочной продуктивности возрастают.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко, Е. Г. Перспективы использования геномного анализа при разведении и селекции крупного рогатого скота / Е. Г. Бойко // Аграрный вестник Урала.– № 10 (64). – 2009. – С. 33-34.
2. Рекомендации по геномной оценке крупного рогатого скота / Л. А. Калашникова [и др.] // Рекомендации п. Лесные поляны МО, 2015. – 33 с.
3. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук. – М.: «Мир», 1984. – 480 с.
4. Влияние генов диацилглицерол-О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1) и соматотропина (GH) на показатели молочной продуктивности коров красной белорусской породной группы / А. Н. Михалюк [и др.] // Генетика и разведение животных. – Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных РАСХН (Пушкин). – 2020. – № 2. – С. 31-36.