

Молекулярная генетика

Рубрика

<https://doi.org/10.31043/2410-2733-2020-2-31-36>
УДК 636.2.082.2:636.034(476)

А. Н. Михалюк¹, Л. А. Танана¹, О. А. Епишко¹, Т. И. Кузьмина²

Влияние генов диацилглицерол О-ацилтрансферазы 1 (*DGAT1*) и соматотропина (*GH*) на показатели молочной продуктивности коров красной белорусской породной группы

Аннотация. В работе представлены результаты изучения полиморфизма генов диацилглицерол О-ацилтрансферазы 1 (*DGAT1*) и соматотропина (*GH*), влияющих на показатели молочной продуктивности коров красной белорусской породной группы. Объектом исследований являлись крупный рогатый скот и биологический материал (ушной выщип) от коров красной белорусской породной группы, которые содержались в УСП «Новый Двор-Агро» Свислочского района Гродненской области.

ДНК-генотипирование животных по генам диацилглицерол О-ацилтрансферазы 1 (*DGAT1*) и соматотропина (*GH*) проводили с помощью методов полимеразной цепной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

В результате проведенных исследований в популяции коров красной белорусской породной группы 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 генотипами GH^{LL} 66%, GH^{LV} — у 32%, GH^{VV} лишь у 2% коров. Изучаемая группа животных по гену диацилглицерол О-ацил трансферазы 1 (*DGAT1*) была моноформна, все животные имели предпочтительные генотипы $DGAT1^{KK}$, что вероятно связано с ведением целенаправленной селекции на закрепление признаков молочной продуктивности.

Результаты проведенных исследований по изучению влияния генов *DGAT1* и *GH* на показатели молочной продуктивности коров красной белорусской породной группы показали, что в большинстве случаев животные с генотипом GH^{LL} превосходили своих сверстниц GH^{LV} и GH^{VV} , по удою за 305 дней лактации на 0,9–10,1%, жирно- и белковомолочности на 0,2–0,3 п.п., количеству молочного жира и белка в молоке на 1,1–9,1%. Оценка показателей молочной продуктивности коров по *DGAT1* в динамике свидетельствует о том, что с повышением порядкового номера лактации показатели молочной продуктивности возрастают.

Ключевые слова: *DGAT1*, *GH*, молочная продуктивность, крупный рогатый скот.

Авторы:

Михалюк Александр Николаевич — кандидат биологических наук; e-mail: axle-vet@mail.ru;

Танана Людмила Александровна — доктор сельскохозяйственных наук, профессор;

Епишко Ольга Александровна — кандидат сельскохозяйственных наук; e-mail: labgen@mail.ru;

Кузьмина Татьяна Ивановна — доктор биологических наук, профессор; e-mail: prof.kouzmina@mail.ru.

¹ УО «Гродненский государственный аграрный университет»; Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28.

² Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных — филиал ФГБНУ «ФНЦ животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»; 196601, Россия, г. Санкт-Петербург, п. Тярлево, Московское шоссе, 55а.

Введение. Республика Беларусь является страной с динамично развивающимся молочно-товарным производством. Молоко и продукты его переработки являются высококачественными продуктами питания населения, а также в больших объемах поставляются на экспорт. В результате

значительных дотаций сельскому хозяйству Беларусь обладает качественной сырьевой базой, что обеспечивает хорошую конкурентную позицию белорусских молочных продуктов на внешних рынках. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в молочном скотоводстве Республики

Беларусь за последние годы, существует ряд сложностей. Наряду с качеством кормов, уровнем кормления животных, технологией получения молока, обеспечением оптимальных параметров микроклимата животноводческих помещений, большое значение имеет максимальное использование генетического потенциала животных, формирование стад молочных коров желательного генотипа по показателям продуктивности. В этой связи большое значение играет поиск и выявление перспективных генов-маркеров, позволяющих более эффективно вести целенаправленную селекционную работу.

Среди перспективных генов-маркеров продуктивности коров выделяют гены диацилглицерол О-ацил трансферазы 1 (*DGAT1*) и соматотропина (*GH*) [1]. Их взаимосвязь с хозяйственно полезными признаками продуктивности животных хорошо изучена. Однако, учитывая, что в Республике Беларусь практически не велись работы по выявлению генетических маркеров, влияющих на жирномолочность, жирно-кислотный состав молочного жира, и как результат, на качество готового продукта (сливочного масла, пасты и др.), данные гены представляют определенный интерес.

Цель исследований — изучение влияния генов *DGAT1* и *GH* на показатели молочной продуктивности коров красной белорусской породной группы.

Материалы и методы. Объект исследований — коровы красной белорусской породной группы, содержащихся в УСП «Новый Двор-Агро» Свислочского района Гродненской области и полученный от них биологический материал (ушной выщип) в количестве 104 проб.

Генотипирование животных по *DGAT1* и *GH* проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Ядерную ДНК выделяли перхлоратным методом. Основные растворы для выделения ДНК, амплификации и ре-

стрикции готовили по Т. Маниатису, Э. Фрич, Дж. Сэмбуку [2].

Для амплификации участков генов *DGAT1* и *GH* использовали праймеры:

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

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

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

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

Реакционная смесь представлена в таблице 1.

ПЦР-программа *DGAT1*: — 94°C, 5 мин.; 30 циклов — 94°C, 30 с.; 59°C, 40 с.; 72°C, 40 с.; достройка или финальная элонгация — 72°C, 7 мин. Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 2% 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 Aco I. Реакцию проводили при температуре 37°C. Продукты рестрикции генов разделяли электрофоретически в 3% агарозном геле при напряжении 130 В, 50–60 мин, в 1ЧТВБ буфере. Визуализацию фрагментов проводили при УФ-свете на системе геледокументирования Gel Doc RX+(BIORAD) с использованием бромистого этидия. При расщеплении продуктов амплификации по гену *DGAT1* идентифицировался генотип: *DGAT1^{KK}* — фрагмент 411 п.н.

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% 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% агарозном геле при напря-

Таблица 1. Реакционная смесь для проведения амплификации по *DGAT1* и *GH*

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

жении 130 В, 50–60 мин, в 1ЧТВЕ 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 *GH* идентифицировались генотипы: GH^{LL} — 208 п.н.; GH^{LV} — 208/172/35 п.н.; GH^{VV} — 172/35 п.н.

Для изучения молочной продуктивности подопытные животные красной белорусской породной группы 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 или укороченную лактацию.

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 и их обсуждение. Характеристика генофонда крупного рогатого скота по полиморфизму генов, связанных с показателями молочной продуктивности животных, крайне важна для создания стад с более высокими качественными показателями молока. В результате проведенных исследований популяции коров красной белорусской породной группы установлен полиморфизм *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 генотипами GH^{LL} 66%, GH^{LV} — у 32%, а GH^{VV} лишь у 2% коров. Что касается гена *DGAT1*, то результаты исследований показали, что все животные имели

лишь один генотип — $DGAT1^{KK}$ т.е. по данному гену отсутствовал полиморфизм. Ген *DGAT1* локализован на 14 хромосоме генома *Bos Taurus* и определен как генетический маркер, влияющий на качество молока. *DGAT1* используется в биосинтезе липидов и связан с жирномолочностью коров [3]. Установлено (Grisart B., 2002), что генотип $DGAT1^{KK}$ является наиболее желательным, т.к. коровы, имеющие данный генотип производят более жирное молоко, чем коровы с генотипами $DGAT1^{AK}$ и $DGAT1^{AA}$ [4]. Полученные в наших исследованиях данные свидетельствуют о том, что стадо хорошо отселекционировано и все животные имеют желательный по показателю жирномолочности генотип — $DGAT1^{KK}$.

На следующем этапе исследований нами изучена молочная продуктивность коров красной белорусской породной группы с различными генотипами по *GH* и *DGAT1* (табл. 2-4).

Анализ данных таблицы 2 свидетельствует о том, что более высокие показатели молочной продуктивности имели первотелки с генотипом GH^{LL} . Так, по удою за 305 дней лактации они превосходили первотелок с генотипом GH^{LV} на 0,9%, а первотелок GH^{VV} — на 3,0%, соответственно. По жирномолочности первотелки с генотипами GH^{LL} и GH^{LV} находились на одном уровне и превосходили сверстниц с генотипом GH^{VV} на 0,2 п.п.

Количество молочного жира за 305 дней лактации также оказалось выше у первотелок с генотипом GH^{LL} и составило $238,1 \pm 7,79$ кг, что на 1,1% выше, чем у первотелок GH^{LV} и на 7,4%, чем у животных с генотипом GH^{VV} . Аналогичная тенденция наблюдалась по показателям белковомолочности и количеству молочного жира. Так, массовая доля белка в молоке первотелок с генотипом GH^{LL} составила $3,4 \pm 0,04\%$, GH^{LV} — $3,3 \pm 0,05\%$ и GH^{VV} — $3,2 \pm 0,07\%$, соответственно. Количество молочного белка оказалось выше у первотелок с генотипом GH^{LL} на 9,1% ($P < 0,01$), чем в молоке первотелок GH^{VV} , а у первотелок GH^{LV} выше на 7,6% ($P < 0,05$), чем у животных

Таблица 2. Молочная продуктивность первотелок с различными генотипами по *GH* и *DGAT1*

Показатели	Генотип			
	GH^{LL}	GH^{LV}	GH^{VV}	$DGAT1^{KK}$
Удой за 305 дней лактации, кг	$5807,0 \pm 157,97$	$5754,0 \pm 135,99$	$5638,1 \pm 186,11$	$5918,4 \pm 115,54$
Жирномолочность, %	$4,1 \pm 0,06^*$	$4,1 \pm 0,08^*$	$3,9 \pm 0,09$	$4,1 \pm 0,05$
Количество молочного жира, кг	$238,1 \pm 7,79^{**}$	$235,5 \pm 7,78^*$	$221,6 \pm 8,59$	$236,8 \pm 5,90$
Белковомолочность, %	$3,4 \pm 0,04^*$	$3,3 \pm 0,05$	$3,2 \pm 0,07$	$3,3 \pm 0,07$
Количество молочного белка, кг	$196,9 \pm 4,96^{**}$	$194,2 \pm 6,31^*$	$180,4 \pm 7,37$	$192,1 \pm 5,52$

* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$

с генотипом GH^{VV} , но на 1,3% ниже, чем у первотелок GH^{LL} .

Что касается гена $DGAT1$, то как было отмечено выше, все опытные животные имели один генотип — $DGAT1^{KK}$ и, 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.

Показатели молочной продуктивности коров по второй лактации повторяют динамику аналогичных показателей первотелок (табл. 3). Коровы второй лактации с генотипом GH^{LL} характеризуются более высокими показателями молочной продуктивности в сравнении с генотипом GH^{LV} и GH^{VV} .

Так, по удою за 305 дней лактации они превосходили коров с генотипом GH^{LV} на 2,1%, GH^{VV} — на 10,1% ($P < 0,01$) соответственно. Что касается показателя жирномолочности, то коровы второй лактации с генотипами GH^{LL} и GH^{LV} находились на одном уровне и превосходили животных с генотипом GH^{VV} на 0,3 п.п.

Показатель белковомолочности у коров трех генотипов находился на одном уровне и составлял 3,4%. Учитывая, что удой у коров с генотипом GH^{LL} был выше, чем у животных двух других ге-

нотипов, то и количество молочного белка в молоке у них также было выше и составило $211,4 \pm 7,96$ кг, в то время как у животных с генотипом GH^{LV} — $210,0 \pm 7,27$ кг, GH^{VV} — $192,8 \pm 8,56$ кг.

По $DGAT1$ 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 3,8%, белковомолочность — на 0,1 п.п. По массовой доле жира в молоке различий между коровами второй лактации и первотелками не наблюдалось. Учитывая, что удой у коров второй лактации был выше, чем у первотелок, а по массовой доле жира и белка в молоке различий не наблюдалось, либо они были не существенны, то показатели количества молочного белка и жира также были выше у коров второй лактации в сравнении с первотелками.

Показатели молочной продуктивности коров по третьей лактации несколько отличались от предыдущих значений (табл. 4). Так, удой за 305 дней лактации был несколько выше у особей с генотипом GH^{LV} в сравнении с удоем особей с генотипами GH^{LL} и GH^{VV} .

Вместе с тем, по показателям жирномолочности и белковомолочности более высокие показатели имели коровы третьей лактации с генотипом GH^{LL} . Несмотря на то, что удой был незначитель-

Таблица 3. 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	$6248,90 \pm 125,51^{**}$	$6119,10 \pm 186,83^*$	$5672,04 \pm 153,24$	$6144,63 \pm 151,66$
Жирномолочность, %	$4,10 \pm 0,06^*$	$4,10 \pm 0,07^*$	$3,80 \pm 0,09$	$4,10 \pm 0,05$
Количество молочного жира, кг	$255,70 \pm 8,95^{**}$	$247,90 \pm 7,66^*$	$215,50 \pm 8,32$	$249,80 \pm 7,26$
Белковомолочность, %	$3,40 \pm 0,07^*$	$3,40 \pm 0,05$	$3,40 \pm 0,07$	$3,40 \pm 0,04$
Количество молочного белка, кг	$211,40 \pm 7,96^{**}$	$210,00 \pm 7,27^*$	$192,80 \pm 8,56$	$209,40 \pm 5,35$

* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$

Таблица 4. 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	$6393,40 \pm 154,09$	$6536,10 \pm 174,10^*$	$6210,00 \pm 205,52$	$6480,60 \pm 166,32$
Жирномолочность, %	$4,10 \pm 0,09$	$4,00 \pm 0,09$	$4,10 \pm 0,09$	$4,10 \pm 0,07$
Количество молочного жира, кг	$261,70 \pm 9,07$	$262,30 \pm 9,30$	$254,20 \pm 7,97$	$262,00 \pm 9,41$
Белковомолочность, %	$3,60 \pm 0,06$	$3,50 \pm 0,05$	$3,50 \pm 0,09$	$3,60 \pm 0,04$
Количество молочного белка, кг	$230,30 \pm 7,59^*$	$230,50 \pm 9,10^*$	$217,30 \pm 8,98$	$230,40 \pm 9,35$

* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$

но выше у коров с генотипом GH^{LV} в сравнении с особями с GH^{LL} по количеству молочного жира и белка отличий не наблюдалось, т.к. жирномолочность и белковомолочность была несколько выше у коров GH^{LL} . Наиболее низкий удой был у коров третьей лактации с генотипом GH^{VV} , и хотя, показатели жирно-и белковомолочности у них были на уровне животных двух других генотипов, количество молочного жира и белка оказались ниже за счет более низкого удоя.

По $DGAT1$ 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 5,4%, белковомолочность — на 0,2 п.п. По массовой доле жира в молоке различий между коровами третьей и второй лактаций не наблюдалось. Показатели количества молочного белка и жира также были выше у коров

третьей лактации в сравнении с животными второй лактации. Оценка показателей молочной продуктивности по $DGAT1$ в динамике свидетельствует о том, что с повышением порядкового номера лактации показатели молочной продуктивности возрастают.

Выводы. Результаты проведенных исследований по изучению влияния генов $DGAT1$ и GH на показатели молочной продуктивности коров красной белорусской породной группы показали, что в большинстве случаев животные с генотипом GH^{LL} превосходили своих сверстниц GH^{LV} и GH^{LL} , по удою за 305 дней лактации на 0,9–10,1%, жирно-и белковомолочности на 0,2–0,3 п.п., количеству молочного жира и белка в молоке на 1,1–9,1%. Оценка показателей молочной продуктивности коров $DGAT1$ в динамике свидетельствует о том, что с повышением порядкового номера лактации показатели молочной продуктивности возрастают.

Литература

1. Леонова М. А. Перспективные гены-маркеры продуктивности сельскохозяйственных животных / М. А. Леонова, А. Ю. Колосов, А. В. Радюк, Е. М. Бублик, А. А. Стетюха, А. Е. Святогорова // Молодой ученый. — 2013. — № 12. — С. 612–614.
2. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование // Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук-М.: «Мир». — 1984. — 480 с.
3. Зиннатова Ф. Ф. Роль генов липидного обмена ($DGAT1$, $TG5$) в улучшении хозяйственно полезных признаков крупного рогатого скота / Ф. Ф. Зиннатова, Ф. Ф. Зиннатов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. — 2014. — Т. 219. — С. 164–168.
4. Grisart B. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine $DGAT1$ gene with major effect on milk yield and composition / B. Grisart, W. Coppieters, F. Farnir [et.al.] // Genome Research. — 2002. — V. 12(2). — P. 222–231.

Mikhaliuk A.¹, Tanana L.¹, Epishko O.¹, Kuzmina T.²

Influence of $DGAT1$ and GH genes on milk productivity of red belarusian cow group

Abstract. The work presents the results of studies on the influence of diacylglycerol O-acyl transferase 1 ($DGAT1$) and somatotrophin (GH) genes taking into account their polymorphism on the milk productivity of red Belarusian cows. The object of the research was biological material from cows of red Belarusian breed contained in the USP «Novi Dvor-Agro» of the Svislochsky district of the Grodno region.

DNA diagnostics of genotypes by the genes diacylglycerol O-acyl transferase 1 ($DGAT1$) and somatotrophin (GH) were carried out using polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP).

As a result of the research carried out on the population of cows of the red Belarusian breed, the polymorphism of the gene somatotrophin (GH), represented by two alleles — GH^L and GH^V , with three genotypes GH^{LL} , GH^{LV} and GH^{VV} identified. Among the test animals, individuals with a GH^{LL} allele variant of 66% were more likely to cows, the GH^{LV} was identified in 32%, and the GH^{VV} was detected in only 2% of cows. By the gene diacylglycerol O-acyl transferase 1 (DGAT 1) polymorphism was identification, all animals had only one genotype, $DGAT1^{KK}$.

Results of studies conducted on the effects of diacylglycerol O-acyl transferase 1 genes (DGAT1) and somatotrophin (GH) on milk productivity indices of cows of the red Belarusian breed group showed that in most cases animals with genotype GH^{LL} outnumbered their peers GH^{LV} and GH^{LL} , in terms of 305 days of lactation per 0.9–10.1%, fat and protein flakiness per 0.2–0.3 p.p., the amount of milk fat and protein in milk per 1.1–9.1%. Evaluation of milk productivity of cows by the gene diacylglycerol O-acyl transferase 1 (DGAT 1) in dynamics shows that with increase of lactation sequence number milk productivity indices increase.

Key words: *DGAT1, GH, dairy productivity, cattle.*

Authors:

Mikhaliuk A. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: axle-vet@mail.ru;

Tanana L. — Dr. Habil. (Agr. Sci.), Professor;

Epishko O. — PhD (Agr. Sci.); e-mail: dnklab.ggau.by;

Kuzmina T. — Dr. Habil. (Biol. Sci.), Professor; e-mail: prof.kouzmina@mail.ru.

¹ UO «Grodno State Agrarian University»; Republic of Belarus, 230008, Grodno, ul. Tereshkova, 28;

² Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L. K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, 196601, Russia, St. Petersburg, Pushkin, Russia, Tyarlevo, Moscovskoe sh. 55a.

References

1. Leonova M. A. Promising genes-markers of productivity of agricultural animals / M. A. Leonova, A. Yu. Kolov, A. V. Radyuk, E. M. Bublik, A. A. Setyuch, A. E. Svatogorov // Young scientist. — 2013. — № 12. — P. 612–614.
2. Maniatis T. Molecular Cloning / T. Maniatis, E. Fritch, J. Sam-brook-M.: «The World». — 1984. — 480 p.
3. Zinnatova F. F. The role of lipid exchange genes (DGAT1, TG5) in improving the cho-zian-useful features of cattle / F. F. Zinnatova, F. F. Zinnatov // Scientists Notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman. — 2014. — V. 219. — P. 164–168.
4. Grisart B. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition / B. Grisart, W. Coppieters, F. Farnir [et.al.] // Genome Research. — 2002. — V. 12(2). — P. 222–231.