

Результаты полиморфизма гена CAPN1, ассоциированных с показателями продуктивности скота абердин-ангусской породы*

В.М. Габидулин, д.с.-х.н., С.А. Алимова, к.с.-х.н., ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН; А.А. Салихов, д.с.-х.н., Оренбургский филиал ФГБОУ ВО РЭУ им. Г.В. Плеханова

В последние годы всё большую актуальность приобретает изучение генетического полиморфизма, которое стало одним из наиболее важных и плодотворных направлений как в области фундаментальной генетики, так и прикладных исследований. Ряд разработок в этой области успешно используют для повышения эффективности селекции сельскохозяйственных животных и в мясном скотоводстве. Применение ДНК-маркёров для ускорения решения селекционных задач получило название селекция с помощью маркёров или маркер-ассоциированная селекция (MAS-marker assisted selection). ДНК-маркёры – это аллельные варианты генов, напрямую или косвенно связанные с продуктивными и адаптационными признаками животных, с устойчивостью или восприимчивостью к заболеваниям [1–4]. Выявление предпочтительных с точки зрения селекции вариантов таких генов позволяет дополнительно к традиционному отбору животных, например, по интенсивности роста, по молочности, по мраморности и нежности мяса, проводить селекцию по генотипу. Структурные генетические вариации, связанные с интересующими признаками, являются многообещающими целями для селекции животных [5–8]. При этом использование ДНК-маркёров при генотипировании животных для достижения результатов в селекционном направлении в настоящее время является безальтернативным и долго будет оставаться таковым, так как для этого не имеет значения влияние паратипических факторов. Панели генов для молекулярно-генетических исследований в мясном скотоводстве, помимо групп маркёров продуктивных и племенных качеств животных, включают гены признаков, которые ассоциируются с показателями качества мяса [9, 10]. Эти признаки обусловлены характеристиками мышечной ткани, оценку которых невозможно провести прижизненно.

С насыщением мирового рынка конкурентной говядиной превосходство имеет продукция от технологических мясных пород с выдающимися вкусовыми качествами, поэтому панель генов, ассоциированных с мясной продуктивностью, включает ген CAPN1 [11].

Выбор гена CAPN1 (кальпаин) обусловлен эффектом в период интенсивного роста животных и участвует в разрушении мышечных волокон –

процессе, сопровождающем рост мышечной ткани [12, 13].

Выявление генотипов с желательными генами для совершенствования абердин-ангусского стада является актуальным. Цель исследования заключалась в определении взаимосвязи параметров экстерьера и продуктивности животного и генов кальпаин-кальпастатиновой системы, которая ассоциируется с ростом мышечной ткани и нежностью мяса.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись животные абердин-ангусской породы (n = 100) ООО «Суерь» Курганской области. Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями Russian regulations, 1987 (Order No. 755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health and The Guide for Care and Use of Laboratory Animals. National Academy Press Washington, D.C. 1966). При выполнении исследования были приняты усилия для сведения к минимуму страдания животных и уменьшения количества используемых образцов.

Фрагменты ДНК амплифицировали на программируемом термоциклере MyCycler (Bio-Rad, США). Полиморфизм гена CAPN1 диагностировали на анализаторе нуклеиновых кислот АНК-32, используя набор реагентов «CAPN1-Детект», который предназначен для выявления бинарной SNP-мутации С316G в пробах ДНК-методом ПЦР в реальном времени с использованием аллель-специфичных зондов (ООО «Синтол») (табл. 1).

1. Специфические олигонуклеотиды и программа проведения ПЦР

Ген	Праймер	Программа ПЦР
CAPN1	F: 5' – AGCAGCCCACCAT-CAGAGAAA -3' R: 5' – TCAGCTGGTTCG-GCAGAT -3'	95°C – 200 сек., 62°C – 50 сек., 95°C – 20 сек.

Частоту встречаемости генотипов определяли по формуле:

$$p = n / N,$$

где p – частота генотипа;
 n – количество особей, имеющих определённый генотип;
 N – число особей.

Частоту отдельных аллелей определяли по формулам:

$$pA = (2nAA + nAB) \div 2N,$$

$$qB = (2nBB + nAB) \div 2N,$$

* Исследование выполнено в соответствии с планом НИИР на 2018–2020 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (0761-2019-0012)

где p_A – частота аллеля А;
 q_B – частота аллеля В;
 N – общее число аллелей.

По закону Харди–Вайнберга рассчитывали ожидаемые частоты генотипов в исследуемой популяции.

Лабораторные исследования проводились в ЦКП в лаборатории «Агроэкология техногенных наноматериалов» ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (аттестат аккредитации RA. RU.21ПФ59 от 02.12.15).

Исследование выполняли на оборудовании испытательного центра ЦКП БСТ РАН (аттестат аккредитации RA.RU.21ПФ59 от 12.10.2015).

При обработке экспериментальных данных использовали алгоритм ANOVA (дисперсионный анализ). Во всех процедурах статистического анализа рассчитывали достигнутый уровень значимости (p), при этом критический уровень значимости в данном исследовании принимался меньшим или равным 0,05. Для обработки данных использовали пакет прикладных программ Statistica 10.0 («Stat Soft Inc.», США).

Результаты исследования. Для генотипирования молодняка по полиморфизму гена *CAPN1* (100 гол.), морфологического и биохимического состава крови животных в стаде ООО «Суерь» Курганской области была отобрана цельная кровь из яремной вены у клинически здоровых 50 бычков и 50 тёлочек абердин-ангусской породы, содержащихся в одинаковых условиях одного хозяйства.

По результатам анализа полиморфизма гена *CAPN1* у исследуемого молодняка (50 тёлочек + 50 бычков) было выявлено, что среди тёлочек 2 гол. – носители гомозиготного генотипа *CC*, *GG* – 28 гол. и 20 гол. – гетерозиготного генотипа *CG*. При этом частота встречаемости желательного генотипа *CC* у тёлочек составляла 0,04%, *GG* – 0,56% и 0,4% – гетерозиготного генотипа *CG*. Аналогично у бычков 4 гол. были носителями гомозиготного генотипа *CC*, *GG* – 31 гол. и 15 – гетерозиготного генотипа *CG*; частота встречаемости *CC* составляла 0,08%, *GG* – 0,62% и 0,3% – *CG* гена *CAPN1* (рис.).

Гомозиготные генотипы *CC* и *GG* в обеих группах имели большинство у тёлочек – на 1,5% больше, у бычков – на 2,3% больше по сравнению с другими генотипами. Вместе с тем генотипирование животных по гену *CAPN1* показало превосходство бычков относительно тёлочек по гомозиготным гено-

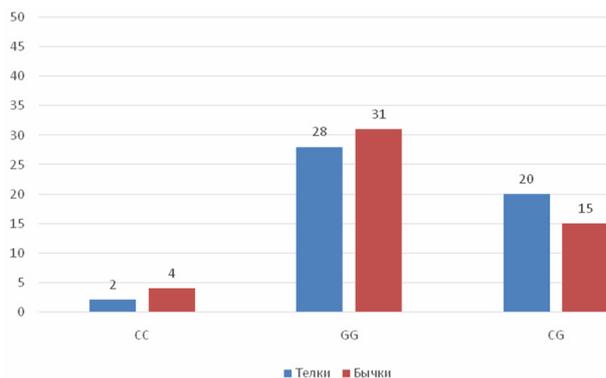


Рис. – Частота встречаемости генотипов по гену *CAPN1* (n=50)

типам *CC* на 50%, *GG* – на 10,7% и преимущество тёлочек по гетерозиготному генотипу – на 33,3%.

Представительницы по совокупности гомозиготного варианта *CC* и *GG* отличались преимуществом по ожидаемой частоте носителей от сверстниц гетерозиготного варианта *CG* на 13,6%. Аналогичное превосходство у бычков составляло 14,6% (табл. 2).

Частота встречаемости желательного аллеля *C* у тёлочек имело лидирующее положение над бычками на 0,01%, и наоборот, уступали бычкам по аллелю *G* – 0,01%. Вместе с тем наличие ожидаемой частоты носителей гомозиготного варианта по тёлочкам составляло 31% и бычкам – 32,5%.

Последующим запланированным этапом исследования было изучение взаимосвязи полиморфизма гена *CAPN1* с показателями продуктивности, линейных промеров.

По результатам исследования у ранжированных тёлочек по генотипу были выявлены недостоверные различия по некоторым показателям продуктивности и линейных промеров. Так, носители гомозиготного типа *CC* превосходили по живой массе своих сверстниц генотипа *GG* в среднем на 2,8% и *CG* на 2,0%, по ширине тазобедренного сустава – на 9,7 и 7,7%, косо́й длине туловища – на 3,1 и 1,7%, косо́й длине таза – на 3,9 и 2,7% соответственно (табл. 3).

Бычки – представители гомозиготного типа *CC* достоверно превосходили сверстников генотипов *GG* и *CG* по широтным промерам туловища, по ширине груди – на 10,8 и 12,6% ($P < 0,05$) соответственно, ширине тазобедренного сустава – на 7,4 и 6,2%. Превосходство по остальным хозяйственно полезным признакам было значительным,

2. Генетическая характеристика молодняка

Генотип	Частота генотипов	Ожидаемая частота носителей	Частота аллеля	Ожидаемый генотип	χ^2
	тёлки – бычки	тёлки – бычки	тёлки – бычки	тёлки – бычки	
CC	0,04–0,08	2,9–2,65	C 0,24–0,23 G 0,76–0,77	0,058–0,053	0,485–1,161
CG	0,4–0,3	18,2–17,7		0,364–0,354	
GG	0,56–0,62	28,9–29,65		0,578–0,593	

3. Показатели продуктивности молодняка генотипов гена CAPN1 (X±Sx)

Показатель	Генотип		
	CC	CG	GG
Тёлки (n=14)			
Живая масса, кг	341,0±2,82	334,3±8,61	331,4±25,7
Высота в крестце, см	111,0±1,41	115,3±4,99	114,4±1,34
Ширина груди, см	28,5±0,70	32,5±3,10	31,2±1,09
Глубина груди, см	52,5±0,70	50,3±5,73	52,8±1,48
Ширина в тазобедренных сочленениях, см	48,5±4,94	45,0±2,70	44,2±1,78
Косая длина туловища (палкой), см	131,0±5,65	128,8±8,99	127,0± 6,12
Косая длина таза, см	44,5±0,71	43,3±3,30	42,8±1,92
Бычки (n=14)			
Живая масса, кг	372,5±72,59	318,3±26,53	319,0±30,80
Высота в крестце, см	117,8±2,22	114,8±2,22	114,0±1,41*
Ширина груди, см	33,8±2,63*	30,0±0,82*	30,5±1,00
Глубина груди, см	55,0±4,24	52,5±1,29	52,3±3,77
Ширина в тазобедренных сочленениях, см	47,8±2,06*	45,0±1,63*	44,5±2,38
Косая длина туловища (палкой), см	131,0±14,05	127,3±4,43	124,3±3,50
Косая длина таза, см	43,5±2,38	43,5±1,00	43,5±3,32

Примечание: * – при P<0,05; ** – при P<0,01; *** – при P<0,001

хотя и недостоверным. Причина – малая выборка животных.

Вывод. Молодняк гомозиготного генотипа CC отличается от сверстников гомозиготного GG и гетерозиготного CG генотипов по важным хозяйственным полезным признакам повышенной живой массой, растянутым форматом туловища и особенно важной её частью – выраженной задней третью туловища, что является дополнительным инструментом коррекции селекционных процессов при совершенствовании стада абердин-ангусского скота.

Литература

1. Селионова М.И., Гладырь Е.А. и др. Молекулярно-генетические маркеры в селекционной работе разными видами сельскохозяйственных животных // Вестник АПК Ставрополя, 2012. № 2. С. 30–35.
2. Джуламанов К.М., Дубовскова М.П. Экологическая адаптивность и иммуногенетические маркеры в племенной работе // Зоотехния. 2003. № 7. С. 9–10.
3. Габидулин В.М., Алимова С.А., Тюлебаев С.Д. Современные методы эффективного использования генофонда абердин-ангусского скота австралийской селекции с использованием ДНК-маркеров // Вестник Курганской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. № 2 (22). С. 28–31.
4. Габидулин В.М., Алимова С.А., Тарасов М.В. Влияние полиморфизма гена тиреоглобулина (TG5) на продуктивность стада мясного скота в ООО «Суерь» абердин-ангусской породы австралийской селекции в зоне Зауралья // Вестник мясного скотоводства. 2016. № 3 (95). С. 21–26.
5. Дубовскова М.П., Герасимов Н.П. Формирование базы

данных селекционных и генетических параметров с учётом полиморфизма ДНК-маркеров скота герефордской породы // Молочное и мясное скотоводство. 2017. № 5. С. 11–13.

6. Джуламанов К.М., Селионова М.И., Герасимов Н.П. Генетическая характеристика популяции герефордского скота // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2018. № 4 (48). С. 59–64.
7. Каюмов Ф.Г. Анализ полиморфизма генов CAPN1, GH и TG5 у помесного молодняка при скрещивании калмыцкого скота и красных ангусов / Ф.Г. Каюмов, И.М. Дунин, М.И. Селионова [и др.] // Животноводство и кормопроизводство. 2018. Т. 101. № 4. С. 28–34.
8. Hocquette JF, Renand G, Leveziel H, Picard B, Cassar-Malek I. Potential benefits of genetics and genomics to improve beef quality – a review. *Anime Sci Rep Pop.*, 2006; 24 (3): 173–189.
9. Gutierrez-Gil B, Wiener P, Nute GR, Burton D, Gill JL, Wood JD, Williams JL. Quantitative detection of loci meat quality traits in cattle. *Anim Genet.* 2008; 39 (1): 51–61.
10. Garrick D. the Nature and scale of some genome analyses in cattle in the US. In the proceedings of the beef improvement Federation 41st annual Symposium on research: April 30 – may 03, 2009. Sacramento, California, USA: beef improvement Federation; 2009. P. 92–102.
11. Dzhulamanov, K., Gerasimov, N., Dubovskova, M., & Baktygalieva, A. (2019). Polymorphisms of CAPN1, CAST, GDF5, TG5 and GH genes in Russian Hereford cattle. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 25(2), 375–379.
12. Miquel M.C., Villarreal E., Mezzadra C., Melucci L., Soria L., Corva P., SchorA. The association of CAPN1 316 marker genotypes with growth and meat quality traits of steers finished on pasture // *Genetics and Molecular Biology*. 2009. 32, № 3. P. 491–496.
13. Schenkel F.S., Miller S.P., Jiang Z., Mandell I.B., Ye X., Li H., Wilton J.W. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle // *J. Anim. Sci.* 2006. 84, № 2. P. 291–299.