

РУБАН С.Ю.¹, ЛЫСЕНКО Н.Г.^{2✉}, МИТИОГЛО Л.В.³, ГОРАЙЧУК И.В.⁴, КОЛЕСНИК А.И.⁵, ФЕДОТА А.М.²

¹ ООО «МПК Екатеринославский»,

Украина, 49082, г. Днепр, ул. Передовая, 545, e-mail: rubansy@gmail.com

² Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина,

Украина, 61022, г. Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: n.g.lysenko@gmail.com, afedota@mail.ru

³ ДП ДГ «Нива» Института разведения и генетики животных имени М. В. Зубца НААН,

Украина, 20009, Черкасская обл., Христиновский р-н, с. Христиновка, ул. Садовая, 1, e-mail: niva.irgt@mail.ru

⁴ Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»,

Украина, 61023, г. Харьков, ул. Пушкинская, 83, e-mail: goraichuk@ukr.net

⁵ ЧП «Агрофирма Свитанок»,

Украина, 63209, Харьковская обл., с. Новоселовка, ул. К. Маркса, 11, e-mail: agro_svitanok@ukr.net

✉ n.g.lysenko@gmail.com, (099) 640-90-23

ЭФФЕКТЫ SNP *CAPN316* И *CAST282* НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОТОМСТВА БЫКОВ ПОРОД МОЛОЧНОГО И МЯСНОГО НАПРАВЛЕНИЙ

В течение последних десятилетий, благодаря реализации программ маркер-ориентированной селекции, наблюдалось постепенное улучшение показателей качества и количества молочной и мясной продукции [1]. Однако маркеры, которые используются для селекции высокопродуктивного крупного рогатого скота (КРС), потенциально могут обладать плеiotропным эффектом и отрицательно влиять на репродуктивные характеристики [2]. Например, увеличение выхода молока и содержания жира в молоке у Голштинской породы в течение 25-летнего периода наблюдалось на фоне снижения показателей репродуктивного успеха [3].

У животных мясного направления в качестве традиционных маркеров качества мяса описаны SNPs генов кальпаин-кальпаин-татиновой системы *CAPN1* и *CAST* [4, 5], имеющих плеiotропный эффект, поскольку продукты их экспрессии – кальпаин и его ингибитор кальпаин повсеместно присутствуют в мышечной ткани. У животных молочного направления эффект этих генов ассоциируется преимущественно с репродуктивными характеристиками: ген *CAPN1* связан со способностью к овуляции перед отлучкой телят и продолжительностью анэстрального интервала после отела [2], а ген *CAST* – с частотой беременности дочерей [6]. Учитывая, что для некоторых SNPs

этих генов опубликованы данные об ассоциации их с размером вымени [7], можно предположить существование их связи с количественными и качественными характеристиками молока.

В большинстве представленных работ внимание авторов сосредоточено на исследовании ассоциации отдельных SNPs и экономически значимых признаков у самих животных. Однако, несмотря на то, что при ведении селекционной работы целесообразно проводить анализ характеристик потомства быков с установленными генотипами, подобные работы относительно редки.

Цель работы заключалась в исследовании связи отдельных генотипов и аллельных вариантов SNPs *CAPN316* в 9-м экзоне гена *CAPN1* 29-й хромосомы КРС и *CAST282* в 5-м интроне гена *CAST* 7-й хромосомы КРС с количественными характеристиками потомства быков пород молочного и мясного направления.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись быки молочного (n=24, голштинская, красно-пестрая украинская молочная, черно-пестрая украинская молочная и браун-швицкая породы) и мясного (n = 6, абердин-ангусская порода) направления. Характеристики средней продуктивности дочерей быков молочного направления (n=19714) по

параметрам (молочность, содержание жира, белка, жирномолочность, белкомолочность) и характеристикам (общий тип, вымя, конечности и рога, формат туловища и признаки молочности) описаны на основании данных Каталогов быков молочных и молочно-мясных пород для воспроизводства маточного поголовья за 2014 и 2015 г. [8, 9]. У потомства быков мясного направления, рожденных в период с 2013 по 2016 г. (n=282), проведен анализ данных о массе тела при рождении и среднесуточном привесе. Среднесуточный привес рассчитан как разница между массой при отъеме в конце молочного периода (возраст 210 дней) и массой при рождении, разделенная на 210 (продолжительность молочного периода).

Выделение ДНК из образцов венозной крови животных выполнено с помощью наборов для экстракции ДНК «Diatom DNA Prep 100» («Изоген», РФ). Праймеры для реакции амплификации подобраны в соответствии с опублико-

ванными данными [4, 5]. Рестрикционный анализ проведен с помощью эндонуклеаз рестрикции *RsaI* и *BtgI* («Fermentas», Литва, «Thermo Fisher Scientific», США), электрофоретический анализ выполнен в 2 % агарозном геле.

Статистический анализ проведен с проверкой распределения дат на соответствие закону нормального распределения с помощью показателей асимметрии и эксцесса. Статистические гипотезы проверялись критериями *t* и χ^2 . Анализ связи между признаками выполнен методом корреляционного анализа по Пирсону [10].

Результаты и обсуждение

Частоты аллелей по полиморфным вариантам (SNPs) *CAPN316* гена *CAPN1* и *CAST282* гена *CAST* быков молочного и мясного направления приведены в таблице 1. Все исследованные выборки находятся в равновесии по Харди-Вайнбергу ($\chi^2_{ф.} < \chi^2_{ст.}$).

Таблица 1. Частоты аллелей по полиморфным вариантам *CAPN316* и *CAST282* быков молочного и мясного направления

Характеристика	Ген, полиморфный вариант			
	<i>CAPN316</i>		<i>CAST282</i>	
Аллель	<i>C</i>	<i>G</i>	<i>C</i>	<i>G</i>
Частота у быков молочного направления	0,354	0,646	0,667	0,333
Частота у быков мясного направления	0,500	0,500	1,000	0,000

Характеристики быков молочного направления и продуктивность их дочерей приведены в таблице 2. Результаты анализа, основанного на данных разных каталогов, представлены отдельно.

При сравнении данных разных лет практически для всех признаков отмечена закономерность по SNP *CAPN316* *CG > GG ≥ CC*, а по SNP *CAST282* *CG > CC*. Увеличение среднего количества дочерей у быков с разными генотипами на порядок обусловлено, вероятно, маркетинговой стратегией – количеством проданной спермы отдельных быков.

Анализ на основании данных [8] показал, что у дочерей быков с генотипами *GG* и *CG* по SNP *CAPN316* показатели удоя статистически значимо выше, чем при генотипе *CC* ($p=0,032$), а содержание белка убывает в направлении *CC > CG > GG* ($p=0,001$; $p=0,029$). Согласно оценке на основании [9], показатели белкомолочности у дочерей убывают в соответствии с генотипами SNP *CAST282* *CG > CC* ($p=0,081$). Не-

смотря на то, что данное различие не достигает удовлетворительного уровня значимости, полученные результаты можно учитывать в практической работе.

Отмеченное увеличение содержания белка в молоке при генотипах *CC* и *CG* по SNP *CAPN316* может объясняться более высокой Ca^{2+} -опосредованной активностью [4] цитоплазматического кальпаина, участвующего в регуляции апоптоза, дифференцировки клеток, синаптической передачи и метаболизма мышечных белков [11]. При высокой активности кальпаина эффект разрушения мышечных белков в гладкой мускулатуре сосудов может привести к увеличению концентрации низкомолекулярных белков, которые выделяются с молоком. Количество аллелей *C* SNP *CAST282* ассоциируется со снижением активности кальпастина [5], его эффект опосредован через регуляцию активности кальпаина, и будет менее выражен. Таким образом, увеличение количества аллелей *C* по этим двум полиморфным вариантам приводит к

увеличению активности кальпаин-кальпастатиновой системы и, соответственно, к интенсификации катаболизма.

Согласно оценке, полученной на основании данных [9], показатели содержания жира в молоке у дочерей быков с генотипом CG по SNP

CAPN316 значимо выше, чем у дочерей быков с генотипом GG и CC ($p=0,03$). Содержание жира в молоке является параметром, для которого характерна высокая изменчивость, в том числе географическая и сезонная.

Таблица 2. Характеристика продуктивности дочерей быков молочных пород с разными генотипами по полиморфным вариантам CAPN316 и CAST282, $\bar{x} \pm s_x$

Характеристика	Ген, полиморфный вариант					
	CAPN316			CAST282		
Генотип	CC	CG	GG	CC	CG	GG
Каталог 2014 г. [8]						
n	3	7	5	7	8	0
Селекционный индекс, балл	939±100	1192±103	1055±54	1170±95	1030±68	-
Среднее количество дочерей, n	132,3±61,7	138,8±26,8	143,6±51,6	134±36,7	143,6±29,8	-
Средняя продуктивность дочерей по признакам						
Молочность, кг	6067±580*	8823±505*	8067±1224	7698±738	8620±807	-
Содержание жира, %	4,49±0,75	4,07±0,12	3,77±0,05	3,97±0,09	4,08±0,22	-
Жирномолочность, кг	276,5±71,5	356,4±13,4	305,2±48,5	307,3±32,4	346,1±26,2	-
Содержание белка, %	4,39*	3,38±0,06*	3,16±0,04*	3,34±0,08	3,45±0,20	-
Белковомолочность, кг	292,0	297,0±12,0	273,2±42,6	267,8±25,0	309,5±13,4	-
Результаты оценки быка по характеристикам экстерьера дочерей (в стандартизованных единицах)						
Общий тип	3,0	7,0±1,9	10,5±2,5	7,3±3,0	7,3±1,8	-
Вымя	3,0	5,9±2,1	9,0±1,0	5,3±2,9	6,8±1,9	-
Конечности и рога	-7,0	0,6±2,2*	11,0±1,0*	2,8±4,1	1,3±2,9	-
Формат туловища	12,0*	3,9±0,4*	3,5±0,5	4,0±0,4	5,0±1,5	-
Признаки молочности	4,0	4,9±1,9	6,0±1,0	3,8±3,0	5,8±1,2	-
Каталог 2015 г. [9]						
n	3	9	7	7	10	2
Селекционный индекс, балл	725±213	917±153	676±104	686±107	931±140	526±56
Среднее количество дочерей, n	2500,7±2417,8	194,2±60,5	1394,1±1308,4	118,0±30,5	1796,3±1093,0	110±6
Средняя продуктивность дочерей по признакам						
Молочность, кг	4461	8167±481	6900±1285	6095±553	8246±1543	-
Содержание жира, %	3,74	3,89±0,07*	3,71±0,02*	3,75±0,01	3,81±0,09	-
Жирномолочность, кг	167	318,0±25,1	255,2±45,4	228,8±21,6	313,3±56,5	-
Содержание белка, %	-	3,25±0,14	3,13±0,07	3,15±0,06	3,23±0,16	-
Белковомолочность, кг	-	238,5±2,5	255,0±51,7	216,0±13,2	305,7±36,3	-
Результаты оценки быка по характеристикам экстерьера дочерей (в стандартизованных единицах)						
Общий тип	-1,0±1,0	2,7±1,4	1,7±1,8	0,0±1,0	2,9±1,5	0,5±0,5
Вымя	2,0±2,0	1,9±1,2	-0,7±3,2	-2,7±2,3*	2,9±1,0*	0,5±2,5
Конечности и рога	-5,0±5,0	-0,9±1,2*	5,0±2,0*	0,0±3,6	-0,7±1,8	1,5±0,5
Формат туловища	3,5±4,5	2,6±1,6	1,3±1,7	2,0±2,0	2,7±1,7	2,0±1,0
Признаки молочности	1,5±0,5	2,8±1,7	1,3±3,2	1,0±4,0	3,8±1,3	-2,5±1,5

Примечания: n – количество животных в группе; $\pm s_x$ – среднее значение \pm ошибка среднего;

* различие значимо на уровне $p<0,05$.

Содержание молочного жира определяется метаболизмом жирных кислот, в частности уксусной кислоты и глицерина, локализованных в аппарате Гольджи. Лучшие показатели содержания жира в молоке дочерей гетерозиготных быков по каждому из полиморфных вариантов объясняются промежуточной активностью кальпаин-кальпастатиновой системы. При низкой концентрации Ca^{2+} чрезмерно активный кальпаин, который ингибируется слабоактивным кальпастином при генотипе *CC CAST282*, в первую очередь запускает процесс деструкции цитоскелета, что приводит к дестабилизации аппарата Гольджи и прекращению синтеза жирных кислот.

При анализе характеристик дочерей по двум полиморфным вариантам практически для всех соблюдается закономерность *CC < CG < GG*. Показатели в стандартизованных единицах формата туловища значимо лучше при генотипе *CC SNP CAPN316* ($p=0,0004$, анализ на основании [8]), конечностей – при генотипе *GG SNP CAPN316* ($p=0,044$, анализ на основании [8], $p=0,032$, анализ на основании [9]). Вымя доче-

рей быков с генотипом *CG SNP CAST282* получило лучшую оценку, чем с генотипом *CC* ($p=0,028$). Оценка связи этих полиморфных вариантов с подобными параметрами экстерьеры у абердин-ангусов проводилась ранее [7], однако у животных молочного направления в отношении оцененных параметров экстерьеры наблюдается обратный эффект, вероятно, обусловленный другими коадаптивными комплексами генов.

Анализ продуктивности дочерей быков с одинаковым генотипом по *SNP CAPN316* и разными генотипами по *SNP CAST282* показал, что, несмотря на различия по селекционным индексам и количеству дочерей в разные годы, при генотипе *CG SNP CAST282* продуктивные показатели дочерей выше (табл. 3). Количество аллелей *C* двух *SNP* отрицательно коррелирует с показателями молочности ($r=-0,577$; $p<0,05$), жирномолочности ($r=-0,794$; $p<0,05$) и белкомолочности ($r=-0,798$; $p<0,05$). Соответственно, высокая активность кальпаин-кальпастатиновой системы у быков для получения высокопродуктивных дочерей нежелательна.

Таблица 3. Продуктивность дочерей быков молочных пород по полиморфным вариантам *CAPN316 CG* и *CAST282 CC, CG, GG*, $\bar{x} \pm s_x$

Характеристика	<i>CAPN316 CG</i>					
	<i>CAST282</i>			<i>CAST282</i>		
Генотип	<i>CC</i>	<i>CG</i>	<i>GG</i>	<i>CC</i>	<i>CG</i>	<i>GG</i>
Каталог	2014 г. [8]			2015 г. [9]		
n	3	4	0	2	6	1
Селекционный индекс, балл	1315±188	1100±113	-	441±191	1131±162	583
Среднее количество дочерей, n	110,3±17,0	160,3±44,8	-	207,5±67,5	202,8±99,9	116
Средняя продуктивность дочерей по признакам						
Молочность, кг	8048±158	9410±781	-	7833	8335±451	-
Содержание жира, %	4,19±0,09	3,98±0,19	-	3,79	3,94±0,06	-
Жирномолочность, кг	337,3±11,3	370,8±20,2	-	297,0	328,5±22,8	-
Содержание белка, %	3,51±0,04	3,29±0,07	-	3,08	3,34±0,12	-
Белкомолочность, кг	282,0±7,4	308,3±19,5	-	241,0	236	-

Примечания: n – количество животных в группе; $\bar{x} \pm s_x$ – среднее значение ± ошибка среднего.

У КРС мясного направления основными продуктивными характеристиками являются масса тела и скорость прироста массы тела, поэтому анализ потомства быков включал массу телят при рождении, которая расценивается как

предиктор массы тела в зрелом возрасте [12], и среднесуточный привес. Анализ проведен только по *SNP CAPN316*, поскольку генотип по *SNP CAST282* у всех тестируемых быков одинаков – *CC* (табл. 4).

Таблица 4. Характеристика массы и среднесуточного привеса потомства быков мясных пород с разными генотипами по полиморфному варианту *CAPN316*, $\bar{x} \pm s_x$

Генотип	CC	CG	GG
Характеристики потомства			
Масса при рождении, кг n	28,4±0,3 87	27,9±0,6* 79	28,6±0,2* 116
Среднесуточный привес, г/сут. n	793,1±13,5 36	790,8±45,6 27	800,7±15,1 66
Характеристики сыновей			
Масса при рождении, кг n	29,6±0,4 47	28,9±0,2 40	29,5±0,2 64
Среднесуточный привес, г/сут. n	810,6±13,1 18	796,5±22,2 11	813,4±14,5 25
Характеристики дочерей			
Масса при рождении, кг n	27,0±0,3 40	26,8±0,3 39	27,6±0,3 52
Среднесуточный привес, г/сут. n	796,6±21,4 18	786,9±20,8 16	792,3±23,3 40

Примечания: $\bar{x} \pm s_x$ – среднее значение \pm ошибка среднего; * – различие значимо на уровне $p < 0,05$.

Поскольку телята рождались в результате естественного спаривания, существует возможность оценить репродуктивный успех быков с разными генотипами по количеству рожденных телят. Количество телят у быков с «диким» генотипом *GG* по SNP *CAPN316* выше, чем при других генотипах, фактическое распределение количества телят у быков с разными генотипами значимо отличалось от ожидаемого ($p = 0,022$). Более крупные телята рождались у быков с генотипом *GG* ($p = 0,014$). Величина среднесуточного привеса соотносилась с массой телят при рождении – более крупные телята, в среднем на 0,5 кг, от быков с генотипом *GG* по SNP *CAPN316* росли быстрее, в среднем на 10 г/сут., поэтому в конце 7-месячного молочного периода различие по живой массе составляло 20–25 кг.

Выводы

В результате оценки эффекта SNPs *CAPN316* и *CAST282* на характеристики дочерей быков молочных пород установлено, что при

предпочтительном с точки зрения нежности мяса аллеле *C* содержание белка выше и убывает в направлении $CC > CG > GG$. В отношении других признаков, включая удой, содержание жира, жирномолочность, белкомолочность и экстерьерные характеристики, наблюдается обратный эффект: $GG \geq CG \geq CC$. У молочных пород отмечена отрицательная корреляция между количеством аллелей *C* по двум SNP и показателями молочности ($r = -0,577$), жирномолочности ($r = -0,794$), белкомолочности ($r = -0,798$). Таким образом, высокая активность ферментов кальпаин-кальпастатиновой системы не ассоциируется с улучшением продуктивных характеристик у животных пород молочного направления. Количество телят от быков пород мясного направления с «диким» генотипом *GG* по SNP *CAPN316* выше, чем при других генотипах. От быков с генотипом *GG* рождались более крупные телята (+0,5 кг), которые росли быстрее (+10 г/сут), чем от быков с другими генотипами.

Литература

- Hill R., Canal A., Bondioli K., Morell R., Garcia M.D. Molecular markers located on the DGAT1, CAST, and LEPR genes and their associations with milk production and fertility traits in Holstein cattle [Электронный ресурс] // Genet. Mol. Res. – 2016. – 8 р. Режим доступа: <http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2016/vol15-1/pdf/gmr7794.pdf>.
- Collis E., Fortes M.R.S., Zhang Y., Tier B., Schutt K., Barendse W., Hawken R. Genetic variants affecting meat and milk production traits appear to have effects on reproduction traits in cattle // Anim. Genet. – 2012. – V. 43, № 4. – P. 442–446. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02272.x.

3. Washburn S.P., Silvia W.J., Brown C.H., McDaniel B.T., McAllister Trends in reproductive performance in Southeastern Holstein and Jersey DHI herds // *J. Dairy Sci.* – 2002. – V. 85, № 1. – P. 244–251. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74073-3.
4. Miquel M.C., Villarreal E., Mezzadra C., Melucci L., Soria L., Corva P., Schor A. The association of CAPN1 316 marker genotypes with growth and meat quality traits of steers finished on pasture // *Genet. Mol. Biol.* – 2009. – V. 32, № 3. – P. 491–496. doi: 10.1590/S1415-47572009000300011.
5. 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. – V. 84, № 2. – P. 291–299.
6. Garcia M.D., Michal J.J., Gaskins C.T., Reeves J.J., Ott T.L., Liu Y., Jiang Z. Significant association of the calpastatin gene with fertility and longevity in dairy cattle // *Anim. Genet.* – 2006. – V. 37. – P. 304–305. doi: 10.1111/j.1365-2052.2006.01443.x.
7. Лысенко Н.Г., Колесник А.И., Горайчук И.В., Рубан С.Ю., Федота А.М. Ассоциация генов кальпаин-кальпастатиновой системы и параметров экстерьера животных Абердин-ангусской породы // *Факторы экспериментальной эволюции организмов.* – К.: Логос, 2016. – Т. 18. – P. 111–116.
8. Каталог бугаїв молочних і молочно-м'ясних порід для відтворення маточного поголів'я в 2014 році / Колектив авторів. – К., 2014.
9. Каталог бугаїв молочних і молочно-м'ясних порід для відтворення маточного поголів'я в 2015 році / Колектив авторів. – К., 2015.
10. Атраментова Л.О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології. – Х.: ХНУ ім. В.Н. Каразіна, 2007. – 288 с.
11. Гребіник Д.М. Структурно-видові особливості кальпаїнів як основа їх класифікації // *Фізика живого.* – 2012. – Т. 20, № 1–2. – С. 4–8.
12. Curi R.A., Palmieri D.A., Sugisawa L., de Oliveira H.N., Silveira A.C., Lopes C.R. Growth and carcass traits associated with GH1/Alu I and POU1F1/Hinf I gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle // *Genet. Mol. Biol.* – 2006. – V. 29, № 1. – P. 56–61. doi: 10.1590/S1415-47572006000100012.

RUBAN S.Yu.¹, LYSENKO N.G.², MITIOGLO L.V.³, GORAICHUK I.V.⁴, KOLISNYK A.I.⁵, FEDOTA A.M.²

¹ LLC “MPK Ekaterinoslavsky”,

Ukraine, 49082, Dnipro, Peredova str., 545, e-mail: rubansy@gmail.com

² V.N. Karazin Kharkiv National University,

Ukraine, 61022, Kharkiv, Svobody sq., 4, e-mail: n.g.lysenko@gmail.com, afedota@mail.ru

³ DP DG “Nyva”, Institute of Animal Breeding and Genetics nd. a. M.V. Zubets of NAAN,

Ukraine, 20009, Cherkasy reg., Khrystynivka, Sadova str., 1, e-mail: niva.irgt@mail.ru

⁴ National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”

Ukraine, 61023, Kharkov, Pushkinskaya str., 83, e-mail: goraichuk@ukr.net

⁵ PE “Agrofirma Svitanok”,

Ukraine, 63209, Kharkiv reg., Novoselivka, K. Marksa str., 11, e-mail: agro_svitanok@ukr.net

EFFECTS OF SNPS CAPN316 AND CAST282 ON QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF OFFSPRING PRODUCED BY DAIRY AND BEEF BULLS

Aim. The aim of the study was to analyze effects of SNPs CAPN316 in CAST282 in calpain and calpastatin genes on offspring productive traits produced by dairy and beef bulls. **Methods.** Data on offspring productivity included milk performance traits (for dairy bulls), birth weight and average daily gain (for beef bulls). Molecular genetic analysis was performed by PCR-RFLP. χ^2 -, t-tests and Pearson correlation coefficient were used for statistical analysis at significance levels of 0.05. **Results.** In progeny of dairy bulls number of alleles C in both SNPs demonstrated negative correlation with milk yield ($r=-0.577$), fat yield ($r=-0.794$) and protein yield ($r=-0.798$). G allele of CAPN316 (“wild type”) was associated with increased number of beef bulls progeny. Body weight and average daily gain was better in GG-bulls offspring. **Conclusions.** C alleles of SNPs CAPN316 in CAST282 being associated with meat quality traits were found to be ineffective in selection for milk production traits.

Keywords: calpain and calpastatin genes, SNP, CAPN316, CAST282, bull’s genotype, evaluation on progeny, offspring productivity.