

УДК 636.082:636.22/28.082.13

**Экономическая эффективность использования генетического маркера CAPN1
в селекции калмыцкой породы скота**

Д.Б. Косян¹, Е.А. Русакова^{1,2}, Л.Г. Сурундаева¹

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства»,

² ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет»

Аннотация. Изучено влияние полиморфизма гена CAPN1 на скорость роста и показатели экономической эффективности бычков калмыцкой породы. В результате проведённых исследований установлено, что наличие полиморфизма по гену CAPN1 оказывает влияние на скорость роста. Прослеживалась зависимость наличия полиморфизма гена CAPN1 и высоких показателей живой массы. Животные-носители аллеля С гена CAPN1 отличались более высокой энергией роста. Данный факт подтверждает анализ среднесуточных приростов живой массы бычков. Расчёт эффективности производства говядины за счёт животных с наличием полиморфизмов по хозяйственно-полезным качествам демонстрирует, что разведение животных-носителей гена CAPN1 является экономически выгодным по сравнению с типичным скотоводством. За счёт высокой интенсивности роста животных II и III групп при практически одинаковых затратах можно снизить себестоимость 1 ц прироста в этих группах до 6600,1-6706,2 рублей, что на 94,2-200,3 рубля меньше, чем в I группе.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, бычки, калмыцкая порода, мясная продуктивность, полиморфизмы, экономическая эффективность, селекция, рост, полиморфизм гена CAPN1.

Введение.

Ключевой задачей, стоящей перед агропромышленным комплексом, считается увеличение эффективности функционирования. В настоящее время решением этой проблемы является повышение объёмов качественных и доступных производимых продуктов питания высокого качества в достаточном объёме и ассортименте для покрытия нужд населения при экономически эффективной работе всех воспроизводственных процессов в мясном скотоводстве [1-3].

Это предопределило появление особого внимания к ранней диагностике продуктивных качеств мясного скота и возможности предсказывать хозяйственно-полезные признаки в потомстве. Работа нацелена на определение животных с хорошими мясными качествами, нежности мяса и по динамике роста. В связи с этим особую популярность получает практика определения коммерческой стоимости животного по данным прижизненного анализа его продуктивных качеств [4].

Благодаря возможностям молекулярной биологии и генетики стал реальным прогресс в этой области. С помощью методов молекулярной биологии можно проводить раннюю прижизненную оценку продуктивных качеств животных по наличию или отсутствию ряда генов-маркеров [5, 6].

ДНК-технологии расширяют возможности мясного скотоводства, поскольку позволяют контролировать и прогнозировать хозяйственно-полезные признаки у животных. Этот факт является ключевым для определения дальнейших перспектив в области животноводства [7].

Исходя из вышесказанного, целью данной работы явилась оценка экономической эффективности выращивания крупного рогатого скота при наличии генетического полиморфизма в гене мясной продуктивности (CAPN1).

Материалы и методы исследования.

Объект исследований. Бычки калмыцкой породы от рождения и до 14-месячного возраста. Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями Russian Regulation 1987 (Order No. 755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Healthy) and «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1966)». При выполнении исследований были приняты усилия, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшения количества используемых образцов.

Схема эксперимента. С целью оценки экономической эффективности использования генетических маркеров мясной продуктивности на примере CAPN1 в качестве анализируемых параметров были изучены параметры развития животных и качество продукции. Проведены исследования по определению частоты встречаемости полиморфизма гена CAPN1 в популяции бычков калмыцкой породы. Были отобраны 45 голов с различными сочетаниями аллелей и разделены на 3 группы: гомозиготные по аллелю G гена CAPN1 (I группа); гетерозиготные по аллелю C (II группа); гомозиготные по аллелю C (III группа).

В течение всего учётного периода животные содержались в одинаковых условиях. С рождения и до достижения 7 месяцев бычки были на подсосе. После отбивки переведены на стойловое содержание. В этот период кормление осуществлялось по рекомендациям [8]. Эксперимент был завершён по достижению животными 14-месячного возраста.

Рост опытных животных оценивался путём индивидуального взвешивания утром до кормления в течение месяца. На основании этого был проведен расчёт среднесуточного прироста массы тела и относительной скорости роста в различные возрастные периоды.

Для анализа мясной продуктивности был проведён убой (контрольный) трёх бычков 14-месячного возраста из каждой группы. При этом основными оцениваемыми критериями были: съёмная и предубойная живая масса, количество внутреннего жира, масса парной туши, выход туши и убойный выход.

На этапе лабораторного исследования образцы крови, из которых была выделена ДНК, использовались в роли анализируемого биологического материала. Забор образцов крови осуществлялся с применением одноразового инструмента и антикоагулянта (1,5 М ЭДТА). Процесс выделения ДНК происходил с использованием набора для выделения геномной ДНК из цельной крови «ДНК-Экстран 1» («Синтол», Россия). Для процесса амплификации фрагмента гена CAPN1 использовали праймеры.

Оборудование и технические средства. Выделение и исследование ДНК проводились в Испытательном центре ЦКП ФГБНУ ВНИИМС (аттестат аккредитации № RA.RU.21ПФ59 от 02.12.2015 г.), в молекулярно-генетической лаборатории.

ПЦР в реальном времени проводилась с использованием программируемого амплификатора АНК-32 («Синтол», Россия) в объёме реакционной смеси – 25 мкл, содержащей 60 мМ трис-HCl (pH 8,5), 1,5 мМ MgCl₂, 25 мМ KCl, 10 мМ меркаптоэтанол, 0,1 мМ тритонX-100; 0,2 мМ дНТФ, 1 ед. Таq ДНК полимеразы, по 0,5 мкМ каждого из праймеров. Синтез праймеров был осуществлен на основе нуклеотидной последовательности ДНК гена CAPN1 КРС.

Статистическая обработка. Статистическая обработка проводилась с использованием пакета программ «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США). Анализ включал определение средней арифметической величины (M), стандартной ошибки средней (m). Достоверными считали различия при P≤0,05. Оценку статистической значимости различий между группами проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования.

Рост и развитие являются одними из основных параметров оценки и предполагают различные изменения качественного и количественного характера. В организме животного это проявляется не только в увеличении массы, размеров ряда тканей и органов, но и в дифференцировке и специализации последних. Эти процессы связаны и определяются влиянием генотипа фенотипа [9, 10].

Основным параметром оценки ростовых качеств молодняка и уровня его мясной продуктивности является живая масса. Следует учитывать, что этот показатель определяется целым рядом генетических и паратипических факторов. Определение живой массы – это наиболее доступный и распространённый метод изучения особенностей роста и развития [11].

Анализ полученных данных показателей живой массы показал ряд межгрупповых различий. До 3-х месяцев особых различий в динамике живой массы не наблюдалось. С 3 месяцев в III группе живая масса бычков составила 117,4 кг, что на 2,20 и 0,40 кг больше относительно аналогов I и II групп соответственно. Таким образом, с этого возрастного периода начинаются видимые различия по данному показателю. В 8 месяцев животные III группы имели в среднем живой вес 227,7 кг, в то время как в I и II группах значения этого параметра были меньше на 8,4 ($P < 0,05$) и 4,0 % соответственно. При достижении годовалого возраста разница по живой массе составила 6,3 и 3,2 % в пользу III группы в сравнении с I и II группами соответственно. При сравнении групп между собой на период окончания экспериментального исследования разница достигла у I-III групп 6,20 %; III-II – 3,50 %.

Таким образом, можно проследить зависимость высоких показателей живой массы от наличия полиморфизма гена CAPN1. Животные-носители аллеля С гена CAPN1 отличались повышенной энергией роста. Это можно было проследить по анализу среднесуточных приростов живой массы бычков.

Наибольший прирост был получен в период с 13 по 14 месяцы – 1042 г, 1047 и 1082 г в сравниваемых группах соответственно. Разница между III группой и I, II составила 13 % ($P > 0,99$) и 12,6 % в пользу III группы.

При анализе абсолютного прироста подопытных животных было установлено, что бычки III группы также превосходили по приросту живой массы своих сверстников в других группах.

Начиная с 8 месяца, разница по величине данного показателя между сравниваемыми группами составила: I-II – 4,06; III-II – 1,34; I-III – 5,4 % соответственно. Наибольшие значения прироста были зафиксированы в 11-12 месяцев и 13-14 месяцев. Разница в абсолютном приросте в парах групп составляла у I-III, III-II и I-II – 5,6, 5,2 и 0,4 кг соответственно за весь учётный период.

По скорости роста на протяжении всего эксперимента наблюдалась разница между группами, причём наибольшими эти показатели были в период до 8 месяцев. По данному параметру также отличалась группа животных-носителей желательного аллеля С (III группа). У этих животных величина скорости роста оказалась наибольшей, на 5 % превышала значения этого показателя в I и на 2 % – во II группе соответственно. Однако с течением времени (9-12, 13-14 месяцев) животные I группы по данному показателю перестали уступать аналогам из II и III групп. Этот факт можно объяснить меньшей живой массой бычков I группы в начале оцениваемых периодов. Несмотря на это, основными показателями при оценке динамики роста являются абсолютные, а не относительные величины.

Исходя из вышесказанного, по результатам оценки динамики роста подопытных бычков можно констатировать факт того, что между носительством мутации CAPN1 и интенсивностью роста наблюдается тесная связь.

Контрольный убой, в ходе которого изучена мясная продуктивность подопытных животных, был проведён в возрасте 14 месяцев (рис. 1).

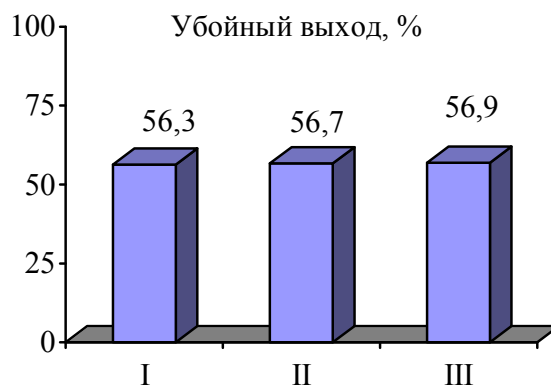


Рис. 1 – Показатели убойного выхода

Животные III группы имели наиболее высокую предубойную массу, превышающую на 22,7 кг (6,0 %) аналогичный показатель в I группе и на 13 кг (3,4 %) – во II группе. Градация сравниваемых групп по выходу туши была сходной. Так, III группа превосходила I группу на 3,54 % и II группу – на 1,24 %. Разница между I и II группами составила 2,3 %. Масса парной туши также была выше в группе животных-носителей желательного аллеля С гена CAPN1. По данному показателю III группа превосходила I на 6,5 %, а II группу – на 3 %. Анализ показателей убойного выхода также показал превосходство III группы относительно остальных. Наибольший убойный выход был зафиксирован в III группе – 56,9 %, что на 0,5 % превосходит величину в I и на 0,11 % – во II группе.

Полученные данные показали, что убойные качества и мясная продуктивность находятся в непосредственной связи с наличием полиморфизма гена CAPN1.

Расчёт эффективности производства говядины за счёт животных с наличием полиморфизмов по хозяйственно-полезным качествам демонстрирует, что разведение животных-носителей гена CAPN1 является экономически выгодным по сравнению с типичным скотоводством. За счёт высокой интенсивности роста животных II и III групп при практически одинаковых затратах можно снизить себестоимость 1 ц прироста в этих группах до 6600,1-6706,2 рублей, что на 94,2-200,3 рубля меньше, чем в I группе (рис. 2).

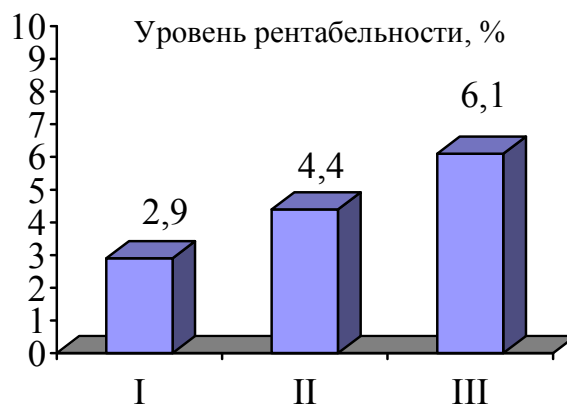


Рис. 2 – Показатели экономической эффективности

В рамках проведённых исследований было установлено, что наибольшая рентабельность производства говядины имела место в III группе – 6,1 %, это на 1,7 и 3,2 % превосходит аналогичный показатель во II и I группах соответственно.

Обсуждение полученных результатов.

Проблема управления вкусом говядины путём изменения режимов созревания мяса до настоящего времени является одной из важнейших в развитии учения о селекции крупного рогатого скота и реставраторстве. Это определило значительное количество исследований в рамках этого направления [12]. Причём всё больше внимания исследователи уделяют проблеме зависимости процесса созревания мяса и формирования вкуса от генотипа животного. Например, японские исследователи даже ввели понятие «Умами» для описания пятого основного вкуса, определяющего важное сенсорное свойство пищевых продуктов, наряду с текстурой и ароматом [13]. Поиск зависимости «Умами» от генетических и других факторов позволил выделить такие признаки, как инозин 5'-монофосфат IMP (основной нуклеотид, определяющий вкус и аромат мяса по итогам посмертного созревания) [14]. Сочетание IMP и глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты усиливает «Умам» вкус, известный как «Умами» интенсивность [15]. Продукты деградации (инозин и гипоксантин) также являются важными показателями вкуса говядины [16, 17].

В связи с этим понимание генетических факторов созревания имеет важное значение в селекции в целях повышения качества мяса крупного рогатого скота. Оценки наследуемости этих признаков выявляют широкий диапазон наследуемости от низкого до умеренного (0,48, 0,33, и 0,23 соответственно) [18]. Таким образом, SNPs могут быть использованы в качестве маркеров для косвенного улучшения качества говядины [19, 20].

В течение последнего десятилетия были выявлены два перспективных SNPs для этих целей. Один из полиморфизмов в гене калпаина 1 (CAPN1, (mu/I) большой субъединицы), который, как известно, ассоциируется с нежностью мяса [21-23]. Остальные SNP на 5'-АМФ-активируемая протеинкиназа субъединицы гамма-3 гена (PRKAG3), который влияет на высокое содержание гликогена в скелетных мышцах животных [24].

Мы в своих исследованиях детально изучали зависимость экономической эффективности от полиморфизма CAPN1. Как следует из полученных результатов, животные-носители аллеля С гена CAPN1 отличались повышенной энергией роста. Это принципиально определило более высокую экономическую зависимость производства говядины для этой группы животных.

Важным в этой связи является небольшая стоимость работ по ПЦР-исследованию. Это определяет всё большее использование ДНК-маркеров при оценке скота перед откормом и перед убоем.

При оценке экономической эффективности производства следует, что использование молодняка крупного рогатого скота-носителя С аллели гена CAPN1 является наиболее выгодным в сравниваемых группах.

Выводы.

Таким образом, при анализе результатов по изучению бычков калмыцкой породы были выявлены генотипы с желательными аллельными формами гена CAPN1 С316. В кодирующей части этого гена обнаружены замены цитозина на гуанин, приводящие к изменениям в аминокислотной последовательности в положениях 316 (глицин на аланин), обеспечивающие повышение интенсивности роста животных, увеличение эффективности конверсии корма в продукцию, получение мяса с высоким уровнем нежности. Животные, гетерозиготные и гомозиготные по данным аллелям, представляют собой особый интерес для селекции на качественные показатели мяса.

Исследования выполнены в рамках тематического плана по госзаданию № 0761-2014-0002

Литература

1. Гетманцева Л. В. Молекулярно-генетические аспекты селекции животных // Молодой учёный. 2010. № 12. Т. 2. С. 199-201.
2. Chung H.Y., Davis M.E., Hines H.C. Genetic variants detected by PCR-RFLP in intron 6 of the bovine calpastatin gene // Animal Genetics. 2001. № 32(1). P. 53-63.
3. Влияние пробиотических препаратов на обмен химических элементов в организме животных / С.А. Мирошников, О.В. Кван, Д.Г. Дерябин и др. // Вестник Оренбургского государственного университета. 2006. № 12-2(62). С. 151-154.
4. Ранняя диагностика аминокислотного состава мяса крупного рогатого скота по носительству мутации гена CAPN1 / Л.Г. Сурундаева, Д.Б. Косян, Е.А. Русакова и др. // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 2. url: <http://www.science-education.ru/116-12561> (дата обращения: 21.01.2017).
5. Association of polymorphisms in the Pit-1 intron 5 with body measurements in Chinese Cattle / L. Tang, D. Yang, W. Ouyang et al // African Journal of Biotechnology. 2012. № 11(42). P. 9906-9910.
6. Сизова Е.А., Русакова Е.А. Структурно-функциональная реорганизация печени на фоне различной минеральной обеспеченности рациона // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. № 6. С. 136-137.

7. Association analysis of CAPN1 gene variants with carcass and meat quality traits in Chinese native cattle / M. Shi, X. Gao, H. Ren et al. // *African Journal of Biotechnology*. 2014. V. 10. № 75. P. 17367-17371.
8. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: справ. пособие / А.П. Калашников, В.И. Фисинин, В.В. Щеглов, Н.И. Клейменов. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Агропромиздат, 2003. 456 с.
9. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. 2-е изд., перераб. и доп. Минск: Изд-во «Беларусь», 1982. 366 с.
10. Complex vertebral malformation in a stillborn Holstein calf in Japan / H. Nagahata, H. Oota, A. Nitani et al. // *Journal of Veterinary Medical Science*. 2002. V. 64. P. 1107-1112.
11. Zhang A.L., Zhang L. Effects of ghrelin gene genotypes on the growth traits in Chinese cattle // *Molecular Biology Reports*. 2012. V. 39. No. 6. P. 6981-6986.
12. Effect of two non-synonymous ecto-5'-nucleotidase variants on the genetic architecture of inosine 5'-monophosphate (IMP) and its degradation products in Japanese Black beef / Uemoto Yoshinobu, Ohtake Tsuyoshi, Sasago Nanae, Takeda Masayuki, Abe Tsuyoshi, Sakuma Hironori, Kojima Takatoshi and Sasaki Shinji // *BMC Genomics*. 2017. 18: 874. Published online 2017 Nov 13. doi: 10.1186/s12864-017-4275-4.
13. Pegg R.B., Shahidi F. Heat effects on meat/Warmed-Oven Flavour // *Encyclopedia of meat sciences* / editors W.K. Jensen, C. Devine, M. Dikeman. Oxford: Elsevier Ltd. 2004. P. 592-599.
14. Maga J.A., Yamaguchi S. Flavour potentiators // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1983. V. 18. Issue 3. P. 231-312. doi: 10.1080/10408398309527364.
15. Components contributing to the improvement of meat taste during storage / T. Nishimura, M.R. Rhue, A. Okitani, H. Kato // *Agricultural and Biological Chemistry* 1988. № 52. P. 2323-2330.
16. MacLeod G. Flavor of meat and meat products. Springer: US, 1994. The flavour of beef. P. 4-37.
17. Search for an index for the taste of Japanese Black cattle beef by panel testing and chemical composition analysis / K. Suzuki, H. Shioura, S. Yokota, K. Katoh, S.G. Roh, F. Iida et al. // *Journal of Animal Science*. 2017. 88. P. 421-432. doi: 10.1111/asj.12663
18. Marshal D.M. Genetics of meat quality // *The Genetics of Cattle* / editors R. Fries, A. Ruvinsky. CABI Publishing; Oxford, UK, 1999. P. 605-636.
19. Smith Association of a single nucleotide polymorphism in SPP1 with growth traits and twinning in a cattle population selected for twinning rate / M.F. R.M. Allan, R.A. Thallman, S.E. Cushman, S.N. Echternkamp, L.A. White, E. Kuehn, T.P.L. Casas // *Journal of Animal Science*. 2007. № 85. P. 341-347.
20. Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных / Н.А. Зиновьева, О.В. Костюнина, Е.А. Гладырь, А.Д. Банникова, В.Р. Харзинова, П.В. Ларионова, К.М. Шавырина, Л.К. Эрнст // *Зоотехния*. 2010. № 1. С. 8-10.
21. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness / T.P. Smith, E. Casas, C.E. Rexroad, S.M. Kappes, J.W. Keele // *Journal of Animal Science*. 2000. № 78. P. 2589-2594.
22. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent / S.N. White, E. Casas, T.L. Wheeler, S.D. Shackelford, M. Koohmaraie, D.G. Riley, C.C. Chase, D.D. Johnson, J.W. Keele, T.P.L. Smith // *Journal of Animal Science*. 2005. № 83. P. 2001-2008.
23. Effects of calpastatin and micro-calpain markers in beef cattle on tenderness traits / E. Casas, S.N. White, T.L. Wheeler, S.D. Shackelford, M. Koohmaraie, D.G. Riley, C.C. Chase, D.D. Johnson, T.P.L. Smith // *Journal of Animal Science*. 2006. № 84. P. 520-525.

24. SNP variation in the promoter of the PRKAG3 gene and association with meat quality traits in pig / M.T. Ryan, R.M. Hamill, A.M. O' Halloran, G.C. Davey, J. McBryan, A.M. Mullen, C. McGee, M. Gispert, O.I. Southwood, T. Sweeney // BMC Genomics. 2012. 13. 66. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-66>.

Косян Дианна Багдасаровна, кандидат биологических наук, заведующий молекулярно-генетической лабораторией Испытательного центра ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства», 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: +7-9228-44-89-15, email: kosyan.diana@mail.ru

Русакова Елена Анатольевна, кандидат биологических наук ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства», 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29; научный сотрудник Института биоэлементологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», 460000, г. Оренбург, проспект Победы, 13, тел.: +7-919-860-24-78, e-mail: elenka_rs@mail.ru

Сурундаева Любовь Геннадьевна, кандидат сельскохозяйственных наук, руководитель лаборатории генетической экспертизы и книг племенных животных ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства», директор Регионального информационно-селекционного центра Оренбургской области, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532)43-46-80, e-mail: lusour@mail.ru

Поступила в редакцию 5 декабря 2017 года

UDC 636.082:636.22/28.082.13

Kosyan Dianna Bagdasarovna¹, Rusakova Elena Anatolyevna^{1,2}, Surundayeva Lyubov Gennadyevna¹

¹ FSBSI «All-Russian Research Institute of Beef Cattle Breeding», e-mail: kosyan.diana@mail.ru

² FSBEI HE «Orenburg State University», e-mail: elenka_rs@mail.ru

Economic efficiency of the use of the genetic marker CAPN1 in the selection of Kalmyk breed of cattle

Summary. The influence of polymorphism of the CAPN1 gene on growth rate and economic efficiency of calves of the Kalmyk breed was studied. As a result of the conducted researches, it was established that the presence of polymorphism on the CAPN1 gene influences the growth rate. Dependence of polymorphism of the CAPN1 gene and high rates of live weight was traced. Animals with C allele of gene CAPN1 were characterized by a higher energy of growth. This fact confirms the analysis of the average daily weight gain of calves. The calculation of the production efficiency of beef at the expense of animals with the presence of polymorphism in economically useful qualities demonstrates that breeding of animal carrier of the CAPN1 gene is economically advantageous in comparison with typical cattle breeding. Due to high growth rate of animals of groups II and III at practically identical costs, it is possible to reduce the cost of 1 hundredweight of gain in these groups to 6600.1-6706.2 rubles, which is 94.2-200.3 rubles less than in I group.

Key words: cattle, bulls, Kalmyk breed, meat productivity, polymorphisms, economic efficiency, selection, growth, polymorphism of CAPN1 gene.