

15. Хмельничий, Л. М. Бажаний екстер'єрний тип корів молочної худоби / Л. М. Хмельничий // Розведення і генетика тварин : міжвід. тем. наук. зб. – К. : Аграрна наука, 2007. – Вип. 41. – С. 261-269.

16. Factor analysis of linear type traits and their relation with longevity in brazilian holstein cattle / E. L. Kern etc. // Asian Australasian Journal of Animal Sciences. 06/2014; 27(6):784-790.

17. Kadarmideen, H. N. Genetic Parameters for Body Condition Score and its Relationship with Type and Production Traits in Swiss Holsteins / H. N. Kadarmideen, S. Wegmann // J. Dairy Sci. – 2003. – Vol. 86, № 11. – P. 3685–3693.

18. Genetic parameters for body condition score, locomotion, angularity, and production traits in Italian Holstein cattle / M. Battagin etc. // J. of Dairy Science. – 2013. – Vol. 96, № 8. – P. 5344–5351.

19. Методика лінійної класифікації корів молочних і молочно-м'ясних порід за типом / Л. М. Хмельничий [та ін.]. – Суми : ВВП «Мрія-1» ТОВ, 2008. – 28 с.

Поступила 1.03.2017 г.

УДК 636.4.082:612.8:577.113.1

А.И. ГАНДЖА, О.П. КУРАК, Н.В. ЖУРИНА, М.А. КОВАЛЬЧУК,
Л.Л. ЛЕТКЕВИЧ, В.П. СИМОНЕНКО, И.В. КИРИЛЛОВА,
Ж.А. ГРИБАНОВА

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЛЕПТИН И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КОРОВ

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

В статье представлены результаты исследований по анализу полиморфизма гена лептин и его влияния на показатели молочной продуктивности коров голштинской популяции отечественной селекции.

Установлено, что частота встречаемости аллеля LEP^A варьировала в пределах от 0,207 до 0,375, аллеля LEP^B – от 0,625 до 0,793.

В среднем по хозяйствам установлена достоверная взаимосвязь между показателями удою, содержания и выхода молочного белка и аллельными вариантами гена лептин: у животных генотипа LEP^{AA} удои за 305 дней лактации на 4,3 % ($P<0,01$) и 4,7 % ($P<0,01$) превышал аналогичный показатель групп коров с генотипами LEP^{AB} и LEP^{BB} соответственно; коровы, имеющие аллель LEP^B в гомо- или гетерозиготной формах, на 0,10-0,14 п.п. уступали животным генотипа LEP^{AA} по содержанию белка и на 8,4 % ($P<0,001$) – 7,3 % ($P<0,01$) по выходу молочного белка.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, лептин, молочная продуктивность, ПЦР-ПДРФ

POLYMORPHISM OF LEPTIN GENE AND ITS EFFECT ON INDICATORS OF MILK PERFORMANCE OF COWS

RUE «Scientific and practical center of the National academy of sciences of Belarus for Animal husbandry»

The paper dwells on results of studies according to analysis of polymorphism of leptin gene and its effect on milk performance of cows of Holstein population of domestic selection.

It was determined that LEPA allele frequency varied from 0.207 to 0.375, and LEPB allele - from 0.625 to 0.793.

On average, a reliable relationship was determined in farms between the indicators of milk yield, content and yield of milk protein, and allelic variants of leptin gene: in animals of LE-PAA genotype milk yield for 305 days of lactation exceeded by 4.3 % ($P < 0.01$) and 4.7 % ($P < 0.01$) the similar indicator of groups of cows with LEPAB and LEPBV genotypes, respectively; cows with LEPB allele in homo- or heterozygous forms, by 0.10-0.14 pp were inferior to the animals with LEPAA genotype in protein content and by 8.4 ($P < 0.001$) - 7.3 % ($P < 0.01$) in milk protein yield.

Keywords: cattle, leptin, milk performance, PCR-RFLP

Введение. Изучение полиморфизма генов, ассоциированных с показателями молочной продуктивности, и использование их в качестве возможных генетических маркеров дополняет традиционные методы селекции и является одним из эффективных приёмов повышения уровня племенной работы в скотоводстве.

В качестве одного из таких маркеров рассматривается ген лептина (LEP) – полипептидного гормона, структурно представляющего собой протеин, состоящий из 167 аминокислот и включающий 21 аминокислотную сигнальную последовательность. Место локализации гена – 4 хромосома крупного рогатого скота.

Установлено, что лептин обладает плейотропным воздействием на организм и изучается как в связи с энергообменом у мясного скота, так и молочной продуктивностью у животных голштинской породы.

В ряде зарубежных исследований указывается на выявленную достоверную взаимосвязь полиморфных вариантов гена LEP с показателями удоя, жирно- и белковомолочности у коров. Так, согласно данным, полученным Траковика А. и др. [1], голштинские коровы с гомозиготным генотипом LEP^{AA} характеризовались более высокими удоём, содержанием жира и белка, а также ранним возрастом первого отёла.

По сообщению Хабибрахмановой А.Я., разность в удоях канадских коров голштинской популяции между генотипами LEP^{AA} и LEP^{AB} составила 128 кг, а у венгерских – 227 кг [2].

Результаты, полученные Багаль И.Е. и др. в хозяйствах, занимающихся холмогорской породой, свидетельствуют о том, что более высокими удоями отличались коровы с генотипом LEP^{AA} [3].

В Беларуси исследования взаимосвязи молочной продуктивности и полиморфных вариантов лептина не проводились. Таким образом, задача изучения полиморфизма гена лептин, участвующего в формировании показателей молочной продуктивности, оценка его влияния на хозяйственно-полезные признаки и дальнейшая разработка метода молекулярно-генетического мониторинга отечественного генофонда крупного рогатого скота по локусу данного гена является актуальной. Это не только даст возможность оценить генетические особенности племенных стад, но и может стать дополнительным средством повышения эффективности отбора по признакам молочной продуктивности с целью дальнейшего совершенствования отечественного племенного поголовья.

Материал и методика исследований. Исследования выполнены в лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»

Объектом исследований являлись быкопроизводящие коровы (n=164) голштинской популяции молочного скота отечественной селекции КСУП «Племзавод Кореличи» Гродненской, ОАО «Остремечеве» Брестской и КСУП «Брилево» Гомельской областей, предметом исследований – биопробы ткани животных.

Для выделения геномной ДНК использовался перхлоратный метод с собственными модификациями. Все основные растворы для выделения ДНК, амплификации и рестрикции готовились по Т. Маниатису и др.

В процессе работы использовался как свежий биоматериал, так и после длительного хранения (в течение 6-12-ти месяцев при $t = -20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Полученные препараты ДНК подвергались спектрофотометрическому анализу.

Генотипирование животных по локусу гена лептин проведено методом ПЦР-ПДРФ с предварительным оптимизацией состава реакционной смеси, подбором специфических праймеров и термодинамического профиля реакции.

Использованное оборудование: спектрофотометр GenQuant, амплификаторы: DNA Enigme Tetrad и Syre Cycler 8800 (Agilent Technologies), трансиллюминатор с системой визуализации INFINITY-3026, система для анализа нуклеиновых кислот Agilent Technologies 2200 Tare.

Изучен полиморфизм гена лептин, проведена оценка распределения генотипов, генной частоты и генного равновесия с использованием критерия χ^2 и формулы Харди-Вайнберга в исследованных хозяйствах.

Изучены (с учётом количества лактаций) следующие показатели:

удой (кг), жир (%), белок (%), выход молочного жира (кг) и молочного белка (кг) и рассчитаны коэффициенты корреляции между признаками в зависимости от генотипа животных по локусу гена LEP.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Проведена генодиагностика коров голштинской популяции отечественной селекции по локусу гена лептин и изучено влияние его полиморфных вариантов на показатели молочной продуктивности [4].

Установлено наличие полиморфизма по данному гену, представленного двумя аллелями: LEP^A и LEP^B. Идентифицированы генотипы LEP^{AA}, LEP^{AB} и LEP^{BB} (таблица 1).

Таблица 1 – Частоты встречаемости аллелей и генотипов по локусу гена LEP

Хозяйство	n	Частота встречаемости аллелей		Частота встречаемости генотипов, %			χ^2
		LEP ^A	LEP ^B	LEP ^{AA} _A	LEP ^{AB} _B	LEP ^{BB} _B	
КСУП «Племзавод Кореличи»	664	30,375	60,625	118,7	337,5	443,8	22,56
ОАО «Остромечев»	558	20,207	70,793	66,9	227,6	665,5	11,47
КСУП «Брилево»	442	20,238	70,762	114,3	119,0	666,7	99,48
В среднем	1164	20,256	70,744	110,9	229,3	559,8	88,8

В среднем по хозяйствам частота встречаемости аллеля LEP^A составила 0,256, аллеля LEP^B – 0,744. Существенной разницы между уровнями встречаемости аллелей в изученных хозяйствах не выявлено.

Во всех хозяйствах наблюдалось преобладание животных с генотипом LEP^{BB}, частота встречаемости которого в среднем по исследованному поголовью составила 59,8 % и лишь 10,9 % коров являлись носителями гомозиготного генотипа LEP^{AA}.

Расчёт фактического и теоретически ожидаемого распределения генотипов позволили установить, что протестированное поголовье находится в состоянии генетического равновесия, что свидетельствует об отсутствии в данных хозяйствах искусственного отбора, затрагивающего генотипы животных по локусу гена LEP.

Достоверной зависимости распределения генотипов по локусу гена лептин от возраста животных не установлено. Вероятно, такое распределение в большей степени определяется генотипами быков-производителей, закрепленных за данными стадами в определённый период времени (рисунок 1).

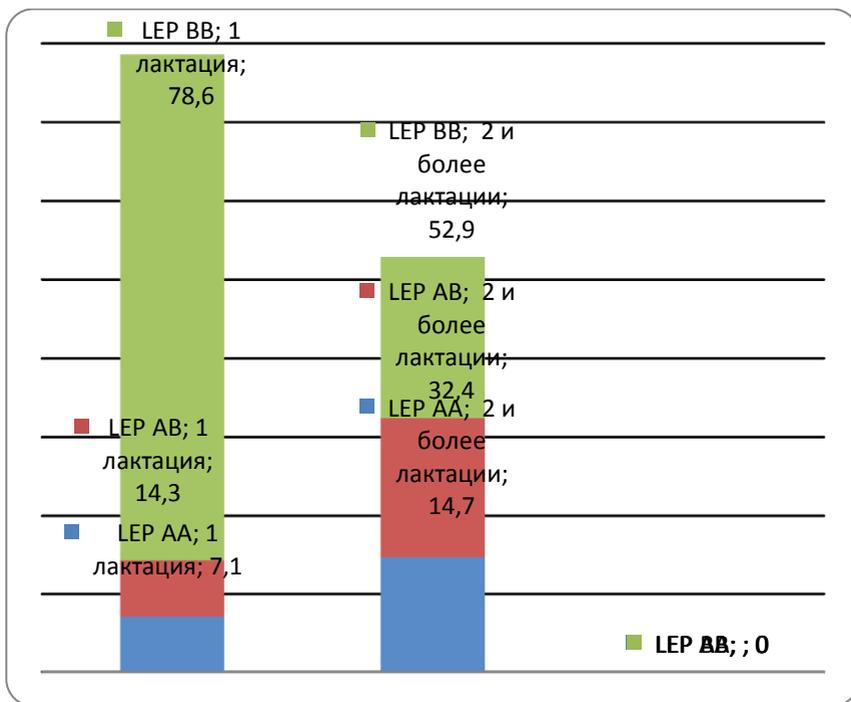


Рисунок 1 – Частоты встречаемости генотипов по локусу гена лептина в зависимости от номера лактации

Изучено влияние полиморфных вариантов гена лептин на показатели молочной продуктивности (таблица 2).

Оценка и анализ показателей молочной продуктивности проводились с учётом генотипа животных: LEP^{AA} , LEP^{AB} , LEP^{BB} . Группы животных с аллелем А в гомозиготной форме были выбраны в качестве контрольных.

В таблице принято: разница с показателями контрольных групп достоверна при: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$.

Выявлено, что в КСУП «Племзавод Кореличи» при среднем по стаду выходе молочного белка 378,0 кг животные-носители гомозиготного генотипа LEP^{AA} превосходили животных генотипов LEP^{AB} и LEP^{BB} по данному показателю на 6,7 и 4,5 % (при $P < 0,001$ и $P < 0,05$ соответственно). Показатели содержания жира и белка варьировали в пределах от 3,94 до 4,04 % и от 3,63 до 3,67 % соответственно и были несколько выше у коров контрольной группы, однако существенной разницы между изученными группами животных выявлено не было.

Таблица 2 – Показатели молочной продуктивности племенных коров голштинской популяции отечественной селекции различных генотипов по локусу A1620G гена лептин

Генотип	n	Удой, кг	Жир, %	Жир, кг	Белок, %	Белок, кг
КСУП «Племзавод Кореличи»						
ЛЕР ^{AA}	12	10782,0±151,2	4,04±0,07	435,7±9,4	3,67±0,02	395,5±7,0
ЛЕР ^{AB}	24	10128,5±178,9***	3,94±0,03	399,4±3,8***	3,64±0,03	369,2±4,6**
ЛЕР ^{BB}	28	10400,1±65,6*	3,95±0,01	410,9±2,4*	3,63±0,03	377,9±4,4*
В среднем	64	10369,9±57,2	3,97±0,02	411,3±2,9	3,64±0,02	378,0±3,1
ОАО «Остромечеве»						
ЛЕР ^{AA}	4	10722,0±47,3	4,12±0,05	441,3±7,8	3,43±0,09	367,4±6,1
ЛЕР ^{AB}	16	10455,1±126,9*	3,96±0,02**	413,7±5,7**	3,37±0,03	351,9±4,1*
ЛЕР ^{BB}	38	10453,2±79,6**	4,09±0,03	426,8±3,9	3,35±0,02	350,2±2,5**
В среднем	58	10472,4±64,1	4,05±0,02	424,2±3,2	3,36±0,02	351,8±2,2
КСУП «Брилево»						
ЛЕР ^{AA}	6	10352,3±48,3	4,46±0,08	462,9±12,2	3,66±0,09	380,8±16,7
ЛЕР ^{AB}	8	9887,7±230,6*	4,52±0,14	445,9±17,8	3,47±0,05	342,4±8,6*
ЛЕР ^{BB}	28	9522,1±113,8***	4,63±0,10	440,3±10,6	3,51±0,03	334,7±5,6**
В среднем	42	9710,3±125,5	4,58±0,07	444,6±8,5	3,52±0,02	342,6±5,8
В среднем по хозяйствам						
ЛЕР ^{AA}	22	10653,9±149,9	4,17±0,06	444,2±8,8	3,62±0,04	386,4±8,6
ЛЕР ^{AB}	48	10197,5±86,3**	4,04±0,04	411,9±4,5**	3,52±0,03*	358,2±3,3**
ЛЕР ^{BB}	94	10160,0±66,1**	4,21±0,04	426,1±3,7	3,48±0,02**	353,8±2,9***
В среднем	164	10237,2±51,1	4,15±0,03	424,4±2,9	3,51±0,01	359,7±2,4

В то же время установлены достоверные различия между выходом молочного жира и молочного белка у коров генотипов LEP^{AB} и LEP^{BB} по сравнению с группой генотипа LEP^{AA} ($P<0,001$ и $P<0,05$) соответственно.

В данном хозяйстве показатели молочной продуктивности были более выравненными по сравнению с другими исследованными хозяйствами, что, по нашему мнению, объясняется использованием в племенной работе спермы быков-производителей, более однородных в плане племенной ценности по этому признаку.

В ОАО «Остромечеве» наблюдалась аналогичная тенденция: удой коров контрольной группы на 2,5 % ($P<0,05$) – 2,6 % ($P<0,01$) превышал аналогичный показатель животных генотипов LEP^{AB} и LEP^{BB} .

Изучение взаимосвязи полиморфных вариантов гена лептин с уровнем белка (%) показало тенденцию незначительного снижения его содержания у коров генотипов LEP^{AB} и LEP^{BB} по сравнению с животными контрольной группы – на 0,06-0,08 п.п. соответственно.

Отмечено некоторое повышение содержания жира в молоке животных, имеющих гомозиготный генотип LEP^{AA} , однако достоверное различие установлено только в группе гетерозиготных животных ($P<0,01$).

Показатели выхода молочного жира и молочного белка у животных трёх групп варьировали в пределах от 413,7 до 441,3 и от 350,2 до 367,4 кг соответственно. В то же время максимальный выход молочного жира и белка выявлен у животных контрольной группы, что на 6,3 ($P<0,01$) – 3,3 % и 4,3 % ($P<0,05$) – 4,7 % ($P<0,01$) превышало значения данных показателей в группах коров с генотипами LEP^{AB} и LEP^{BB} соответственно.

В КСУП «Брилёво» установлено достоверное увеличение показателей удоя при появлении в генотипе животных аллеля LEP^A в гомо- или гетерозиготной форме (на 4,5 % ($P<0,05$) – 8,1 % ($P<0,001$)). Отмечена тенденция снижения содержания белка у животных групп с генотипом LEP^{AB} и LEP^{BB} по сравнению с контрольной группой.

При изучении влияния полиморфизма гена лептин на содержание жир было выявлено, что с появлением в генотипе животных аллеля LEP^B значение данного показателя повышалось, однако эта разница являлась несущественной.

Существенных различий по показателю выхода молочного жира в различных генотипических группах также не установлено.

Максимальный выход молочного белка выявлен в группе коров с генотипом LEP^{AA} (380,8 кг). В группах животных, в генотипе которых присутствовал аллель LEP^B , выход жира был ниже на 7,7-46,1 кг или 10,1 % ($P<0,05$) – 12,1 % ($P<0,01$).

В среднем по хозяйствам установлено, что показатели удоя варьировали в зависимости от хозяйства и генотипа животных в пределах от 9522,1 до 10722,0 кг, белковомолочности – от 3,35 до 3,67 %, жирномолочности – от 3,94 до 4,63 %.

При этом было выявлено, что в среднем по хозяйствам удой коров с генотипом LEP^{AA} за 305 дней лактации был существенно выше, чем в группах животных с генотипами LEP^{AB} и LEP^{BB} на 4,3-4,7 % ($P < 0,01$) соответственно.

Также в среднем по хозяйствам установлено наличие достоверной отрицательной взаимосвязи между показателем содержания белка в молоке и наличием аллеля LEP^B в генотипе животных: коровы, имеющие данный аллель в гомо- или гетерозиготной формах, на 0,10-0,14 п.п. уступали животным генотипа LEP^{AA} по изученному показателю.

Более высокие показатели выхода молочного белка в изученных хозяйствах отмечались в группах коров с генотипом LEP^{AA} (на 7,3 % ($P < 0,01$), 8,4 % ($P < 0,05$) выше по сравнению с животными генотипов LEP^{AA} и LEP^{AA} соответственно).

Таким образом, в среднем по хозяйствам выявлена достоверная положительная взаимосвязь между показателями удоя, содержания и выхода молочного белка и наличием аллеля LEP^A в генотипе животных.

С целью изучения взаимосвязи данных признаков был проведён корреляционный анализ. При этом учитывалось, что существующая корреляционная связь между показателями содержания жира и белка может нарушаться под влиянием различных факторов.

В среднем по протестированным хозяйствам был выявлен отрицательный характер связи между показателями удоя и содержания белка, а также удоя и содержания жира в группах животных с различными генотипами по локусу гена лептин. Коэффициенты корреляции между удоём и содержанием белка варьировали в зависимости от генотипа от -0,08 до -0,22. Взаимосвязь между признаками удоя и содержания жира в молоке животных находилась в среднем по хозяйствам на уровне -0,14. Самый низкий коэффициент корреляции между данными признаками отмечен в группе с гомозиготным генотипом LEP^{BB} (-0,09). Коэффициенты корреляции между признаками содержания жира и белка в молоке были положительными: их значения колебались в пределах от 0,26 до 0,39, практически не изменяясь в зависимости от хозяйства. Это указывает на то, что связь между данными признаками в меньшей степени зависит от условий среды и на возможность ведения отбора по одному признаку при улучшении второго.

Таким образом, изучение влияния полиморфизма гена лептин на показатели молочной продуктивности племенных коров голштинской популяции отечественной селекции свидетельствует о наличии поло-

жительной взаимосвязи между наличием в генотипе животных аллеля LEP^A и удоем, а также содержанием и выходом молочного белка, что указывает на возможность применения данного гена в селекционном процессе в качестве перспективного маркера для данных показателей.

Кроме того, для повышения частоты встречаемости желательных генотипов в породе предлагается при закреплении за маточным стадом быков-производителей в качестве дополнительного селекционно-генетического критерия учитывать оценку их генотипа по локусу гена лептин.

Заключение. 1. Изучен полиморфизм гена лептин, проведена оценка распределения генотипов, генной частоты и генного равновесия среди голштинской популяции молочного скота отечественной селекции. Частота встречаемости аллеля LEP^A варьировала в пределах от 0,207 до 0,375, аллеля LEP^B – от 0,625 до 0,793.

2. В среднем по хозяйствам установлена достоверная взаимосвязь между показателями удоя, содержания и выхода молочного белка и аллельными вариантами гена лептин: у животных генотипа LEP^{AA} удой за 305 дней лактации на 4,3 % ($P < 0,01$) и 4,7 % ($P < 0,01$) превышал аналогичный показатель групп коров с генотипами LEP^{AB} и LEP^{BB} соответственно; коровы, имеющие аллель LEP^B в гомо- или гетерозиготной формах, на 0,10-0,14 п.п. уступали животным генотипа LEP^{AA} по содержанию белка и на 8,4 % ($P < 0,001$) – 7,3 % ($P < 0,01$) по выходу молочного белка.

Литература

1. Genetic polymorphisms of leptin and leptin receptor genes in relation with production and reproduction traits in cattle / A. Trakovicka etc. // Acta Biochim. Pol. – 2012. – Vol. 60(4). – P. 783-785.
2. Полиморфизм гена лептина (LEP) и его взаимосвязь с молочной продуктивностью голштинских коров // А. Я. Хабибрахманова [и др.] // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы : сборник научных трудов. – Гродно, 2014. – Т. 26 : Зоотехния. – С. 301-305.
3. Молочная продуктивность коров холмогорской породы с разными генотипами генов гормонов / И. Е. Багаль [и др.] // Зоотехния. – 2015. - № 9. – С. 23-26
4. Impact of leptin gene polymorphism on breeding value for milk production traits in cattle / J. Komisarek etc. // J. Anim. Feed Sci. – 2005. - № 14. – P. 491-500.

Поступила 6.02.2017 г.