

ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК С РАЗНЫМИ ГЕНОТИПАМИ СОМАТОТРОПИНА (GH)

Сафина Н.Ю., Гилемханов И.Ю., Зиннатова Ф.Ф., Шакиров Ш.К.

Реферат. Полиморфизмы генов могут быть полезны в качестве генетических маркеров для дополнительных критериев отбора в молочном скотоводстве по экономически выгодным признакам. Представленное исследование посвящено влиянию полиморфизма гена соматотропин, отвечающего за качество молока и молочную продуктивность, проводилось среди коров-первотелок голштинской породы СХПК «Племзавод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан. Образцы ДНК были выделены из проб крови 130 коров для генотипирования по гену гормон роста (GH) методом ПЦР-ПДРФ анализа. Установлено, что изучаемый ген полиморфен в исследуемой популяции. Распределение по генотипам гена соматотропин составило: LL – 63,8% (83 гол.), LV – 30,0% (39 гол.), VV – 6,2% (8 гол.), по частоте встречаемости аллелей L и V – 0,788 и 0,212 соответственно. При рассмотрении полиморфизма гена соматотропин в ассоциации с признаками молочной продуктивности и качественного состава молока лучшие результаты продемонстрировали первотелки с генотипом LL. Выявленные взаимосвязи указывают на возможные генетические улучшения исследуемого стада с использованием маркерно-вспомогательной селекции.

Ключевые слова: генотип, соматотропин, гормон роста, GH, полиморфизм, ПЦР-ПДРФ, крупный рогатый скот, удой, жир, белок.

Введение. Количественные признаки контролируются большим количеством генов, а также формируются под влиянием факторов окружающей среды. Исследования в области молекулярной генетики, применяемой в скотоводстве, позволили оценить влияние генов-кандидатов на экономически важные признаки крупного рогатого скота. Идентификация генов, оказывающих значительное влияние на признаки молочной продуктивности, может быть использована для программ генетического улучшения молочного скота. Одним из перспективных генов-кандидатов в ассоциации с молочной продуктивностью крупного рогатого скота является ген-гормон соматотропин (гормон роста).

Гормон роста (GH) принадлежит к семейству соматолактогенных гормонов, которые включают плацентарный лактоген, пролактин и гемапоэтические факторы роста. GH является анаболическим гормоном, синтезируемым и секретируемым соматотрофными клетками. Основной биологический эффект соматотропина заключается в стимуляции постнатального роста и метаболизма (липидного, белкового, углеводного и минерального), а также во влиянии, оказываемом на лактацию и состав молока [1]. Гормон роста представляет собой полипептидный гормон с последовательностью 191 аминокислота, его длина составляет приблизительно 1800 п.н., расположен bGH на хромосоме 19q26, имеет 5 экзонов и 4 интрона [2]. Точка мутации находится в положении 2141 (трансверсия С→G), приводящая к замене аминокислоты лейцин на валин в 127 позиции белка, способствует образованию двух аллелей: L-GH и V-GH, обнаруживается рестрикцией эндонуклеазой *Alu I* [3].

Целью нашего исследования являлось изучение показателей молочной продуктивности и качественного состава молока коров-первотелок голштинской породы с различными генотипами гена соматотропин.

Условия, материалы и методы исследований. Опытные образцы крови и молока были получены от 130 коров-первотелок голштинской породы СХПК «Племенной завод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан. Все испытуемые животные содержались в равных условиях на одном рационе. Отбор проб крови проводился с использованием вакуумных пробирок EDTA K-3 (APEXLAB, Китай) из хвостовой вены животных. Экстрагирование ДНК осуществлялось посредством готового набора «ДНК-сорб В» (АмплиПрайм, Россия), согласно рекомендациям изготовителя. Генотипирование животных по гену соматотропин выполнялось методом ПЦР-ПДРФ. Очищенную ДНК в составе реакционной смеси, содержащей комплект праймеров со следующей последовательностью (СибЭнзим, Россия):

GH-F 5' – GCTGCTCCTGAGGGCCCTTC – 3'

GH-R 5' – CATGACCCTCAGGTAC-GTCTCCG – 3' [4];

амплифицировали в аппарате «T100 Thermal Cycler» (Bio-Rad, США). Полученный амплификон 211 п.о. для определения полиморфизма гена GH, обрабатывали эндонуклеазой *Alu I* (СибЭнзим, Россия) в течение 16 ч при температуре 37 °С. Разделение продуктов ПДРФ проводилось в течение 30 мин в агарозном геле в присутствии бромистого этидия при напряженности электрического поля в 15 В/см в камере горизонтального электрофореза

Таблица – Молочная продуктивность коров-первотелок с разными генотипами гена соматотропин (GH)

Показатели	Генотипы GH			Разница		
	LL (n = 83)	LV (n = 39)	VV (n = 8)	LL и LV	LL и VV	LV и VV
Удой за 305 дней, кг	7198±161	6030±135	5803±418	1168***	1395***	227
Массовая доля жира, %	4,04±0,03	3,71±0,07	3,86±0,10	0,33***	0,18	-0,15
Массовая доля белка, %	3,17±0,02	2,92±0,03	2,91±0,05	0,25***	0,26***	0,01
Выход молочной жира, кг	290,8±7,2	223,4±3,8	224,0±18,1	67,4***	66,8***	-0,6
Выход молочного белка, кг	228,2±6,0	176,1±4,3	168,9±13,8	52,1***	59,3***	7,2

Примечание: *** - $P \leq 0,001$

(Bio-Rad, США). Для визуализации и видеофиксации использовалась система «Gel&Doc» (Bio-Rad, США).

Показатели молочной продуктивности получены из официальной электронной картотеки о стаде «СЕЛЭКС. Молочный скот» (АРМ Плинон, Россия). Массовая доля жира и белка в молоке исследуемых коров-первотелок определялась опытным путем на анализаторе молока «Клевер – 2М» (Биомер, Россия). Достоверность данных, полученных в ходе биометрического анализа, проверялась по критерию Стьюдента для независимых выборок с использованием статистических формул программы MS Excel.

Анализ и обсуждение результатов исследований. В результате анализа ДНК методом ПЦР-ПДРФ образовались фрагменты 52 п.о., 159 п.о., 211 п.о., исходя из чего, были определены все возможные аллели и генотипы гена соматотропин, что свидетельствует о полиморфизме данного гена в исследуемом поголовье голштинского скота. Согласно генодиагностике, частота встречаемости аллелей L и V составила 0,788 и 0,212 соответственно, а генотипов: LL – 63,8% (83 гол.), LV – 30,0% (39 гол.), VV – 6,2% (8 гол.). Установленная вариабельность аллелей и генотипов согласуется с данными, опубликованными различными авторами, изучавшими крупный рогатый скот черно-пестрой, симментальской, ярославской и айрширской породы [5-10]. По ранее опубликованным данным, во всех описанных стадах максимальное количество животных обладают генотипом LL, а генотип VV зафиксирован у минимального поголовья. Исследователи словацкого пестрого скота E. Nazuchová et al. сообщают о преобладании в популяции гетерозиготных LV-особей [11], что противоречит другим источникам.

Анализ молочной продуктивности в разрезе полиморфизма гена GH показал, что достоверно высокие показатели по всем признакам за первую лактацию установлены у коров-первотелок с генотипом LL (табл.).

Разница по уровню удоя между этой группой животных и сверстницами с генотипами LV и VV составила 1168 кг (16,2%; $P \leq 0,001$) и 1395 кг (19,4%; $P \leq 0,001$) соответственно. О подобной тенденции свидетельствуют данные, полученные в ходе исследования молочной продуктивности черно-пестрого и айрширского поголовья крупного рогатого скота, где гомозиготные животные так же отличались высокими удоями за первую лактацию [6, 7, 9]. В популяциях симментальской, ярославской и словацкого крупного рогатого скота повышенная молочная продуктивность ученые отмечали у гетерозиготных LV-животных, по сравнению со сверстницами других генотипов соматотропина [8, 10, 11]. По содержанию массовой доли жира и белка так же преимущество отмечено у первотелок с генотипом GH^{LL}, установленное преимущество над особями с генотипом GH^{LV} составило 0,33% и 0,25% ($P \leq 0,001$), а над GH^{VV} – 0,18% и 0,26% ($P \leq 0,001$). Однако в большинстве опытов, содержится информация, свидетельствующая о том, что наибольшая массовая доля жира и белка установлена в молоке коров с генотипом LV [5, 8, 10, 11]. Так же есть результаты, демонстрируемые другими исследователями, имеющие противоречие с вышеуказанными данными, и сообщают о том, что в популяциях черно-пестрого и айрширского скота жирномолочностью выгодно отличаются коровы с генотипом VV [6, 7, 8].

По нашим данным, выход молочного жира и молочного белка достиг максимальных показателей у субпопуляции с генотипом гена соматотропин LL. Преобладание молочного жира между животными с генотипами LL и LV остановилось на отметке 67,4 кг (23,2%; $P \leq 0,001$), а LL и VV – 66,8 кг (23,0%; $P \leq 0,001$). Молочный белок, в продуцируемом молоке особями LL-генотипа, превышал по массе показатель первотелок LV на 52,1 кг (22,8%; $P \leq 0,001$), а показатель VV-особей – на 59,3 кг (26,0%; $P \leq 0,001$).

Выводы. Таким образом, проанализировав молочную продуктивность и качественный состав молока коров-первотелок с разными генотипами гена GH, установлено, что по всем показателям выгодно отличаются животные, несущие по локусу гена GH-Alu I, гомозигот-

ный генотип LL. Полученные сведения могут быть использованы при составлении животноводческих программ по улучшению генетического потенциала крупного рогатого скота голштинской породы с использованием маркерно-вспомогательной селекции.

Литература

1. Bauman, D.E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application / D.E. Bauman // *Domestic Animals Endocrinology*. – 1999. – V.17. – P.101–116.
2. Hediger, R. Assignment of the GH gene locus to 19q26qter in cattle and to 11q25qter in sheep by in situ hybridization / R. Hediger, S.E. Johnson, W. Barendse, R.E. Drinkwater, S.S. Moore, J. Hetzel // *Genomics*. – 1990. – V. 8. – P. 171–174.
3. Zhang, H.K. Bovine Growth Hormone Gene Frequencies in Samples of U.S.A I Bulls / H.K. Zhang, K.C. Maddock, D.R. Brown, S.K. De Nise R.L. Ax // *Journal of Animal Science*. – 1992. – V.71 (S.1). – P. 93.
4. Reis, C. Growth Hormone AluI Polymorphism Analysis in Eight Portuguese Bovine Breeds / C. Reis, D. Navas, M. Pereira, A. Cravador // *Arch. Zootec.* – 2001. – V 50. – P. 41-48.
5. Валитов Ф.Р. Взаимосвязь полиморфных вариантов генов соматотропина и тиреоглобулина с молочной продуктивностью коров чёрно-пёстрой породы / Ф.Р. Валитов // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. – 2018. - № 4(72). – С. 284-287.
6. Федотова, Н.В. Оценка молочной продуктивности коров с использованием ДНК-анализа соматотропина и количества соматических клеток в молоке / Н.В. Федотова, Г.С. Лозовая // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. – 2011. – № 7 (81). – С. 60-63.
7. Ткаченко, И.В. Влияние полиморфных вариантов генов каппа-казеина и гормона роста на молочную продуктивность первотелок уральского типа / И.В. Ткаченко, С.Л. Гридина // *Известия ТСХА*. – 2018. – № 5. – С. 87-95. DOI 10.26897/0021-342X-2018-5-87-95
8. Bekseitov, T. Expression of candidate genes of lipid metabolism in the Kazakhstani breeding Simmental cattle / T. Bekseitov, R. Abeldinov, T. Asanbaev, G. Dzhaksybaeva // *Annals of Agrarian Science*. – 2017. – Vol. 15. – P. 443-446. doi.org/10.1016/j.aasci.2017.05.005
9. Позовникова, М.В. Генетическая структура айрширского скота по однонуклеотидным ДНК-маркерам и влияние их генотипов на молочную продуктивность / М.В. Позовникова, О.В. Тулинова, И.А. Погорельский, Г.Н. Сердюк // *Генетика и разведение животных*. – 2015. – №2. – С. 22-27.
10. Некрасов, Д.К. Взаимосвязь полиморфных вариантов генов пролактина, гормона роста и каппа-казеина с молочной продуктивностью коров ярославской породы / Д.К. Некрасов, А.Е. Колганов, Л.А. Калашникова, А.В. Семашкин // *Аграрный вестник Верхневолжья*. – 2017. – № 1(18). – С. 40-48.
11. Hazuchová, E. Effect of polymorphisms in the bovine growth hormone gene and impact of inbreeding depression on milk performance traits in Slovak Spotted cattle / E. Hazuchová, N. Moravčíková, O. Kadlečík, A. Trakovická, R. Kasarda, I. Pavlík // *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. – 2013. – V. 2(1). – P. 1324-1334.

Сведения об авторах:

Сафина Наталья Юрьевна – научный сотрудник отдела агробиологических исследований, аспирант кафедры биологической химии, физики и математики, e-mail: natysafina@gmail.com

Гилемханов Ильназ Юнусович – аспирант кафедры биологической химии, физики и математики, e-mail: ilnaz_gilemchanov@mail.ru

ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», г. Казань, Россия

Зиннатова Фарида Фаттыховна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: faridaffz@mail.ru

Шакиров Шамиль Касымович – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела агробиологических исследований, e-mail: intechkorm@mail.ru

Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства ФИЦ Казанский научный центр РАН, г. Казань, Россия.

CHARACTERISTIC OF MILK PRODUCTIVITY OF COWS-HEIFERS WITH DIFFERENT GENOTYPES OF SOMATOTROPIN (GH)

Safina N.Yu., Gilemchanov I.Yu., Zinnatova F.F., Shakirov Sh.K.

Abstract. Polymorphisms of genes may be useful as genetic markers for additional selection criteria in dairy cattle breeding for economically advantageous traits. The presented study is dedicated to the influence of gene polymorphism, responsible for milk quality and milk productivity was carried out among Holstein cow-heifers in Integrated Agricultural Production Centre “Stud farm named after Lenin” of Atninsky district of the Republic of Tatarstan. DNA samples were isolated from blood samples of 130 cows for genotyping according to gene of growth hormone (GH) by PCR-RFLP analysis method. The genotypes distribution of the somatotropin gene were as follows: LL – 63.8% (83 animals), LV – 30.0% (39 animals), VV – 6.2% (8 animals), the distribution in frequency of occurrence of alleles L - 0.788 and V - 0.212. When considering the gene polymorphism association with the signs of milk production and the qualitative composition of milk showed prominent results cow-heifers with a LL genotype. The identified relationships indicate the possible genetic im-

provement of the investigated herds using marker-assisted selection.

Key words: genotype, somatotropin, growth hormone, GH, polymorphism, PCR-RFLP, cattle, milk yield, fat, protein.

References

1. Bauman, D.E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application / D.E. Bauman // *Domestic Animals Endocrinology*. – 1999. – V.17. – P. 101–116.
2. Hediger R. Assignment of the GH gene locus to 19q26qter in cattle and to 11q25qter in sheep by in situ hybridization / R. Hediger, S.E. Johnson, W. Barendse, R.E. Drinkwater, S.S. Moore, J. Hetzel // *Genomics*. – 1990. – V. 8. – P. 171–174.
3. Zhang H.K. Bovine Growth Hormone Gene Frequencies in Samples of U.S.A I Bulls / H.K. Zhang, K.C. Maddock, D.R. Brown, S.K. De Nise R.L. Ax // *Journal of Animal Science*. – 1992. – V.71 (S.1). – P. 93.
4. Reis, C. Growth Hormone AluI Polymorphism Analysis in Eight Portuguese Bovine Breeds / C. Reis, D. Navas, M. Pereira, A. Cravador // *Arch. Zootec.* – 2001. – V 50. – P. 41-48.
5. Valitov F.R. Interrelation of polymorphic variants of somatotropin and thyroglobulin genes with milk productivity of cows of black-motley breed. [Vzaimosvyaz polimorfnykh variantov genov somatotropina i tireoglobulina s molochnoy produktivnostyu korov cherno-pestroy porody]. / F.R. Valitov // *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – *The Herald of Orenburg State Agrarian University*. 2018. - № 4(72). – P. 284-287.
6. Fedotova N.V. Evaluation of milk productivity of cows using DNA analysis of growth hormone and the number of somatic cells in milk. [Otsenka molochnoy produktivnosti korov s ispolzovaniem DNK-analiza somatotropina i kolichestva somaticheskikh kletok v moloke]. / N.V. Fedotova, G.S. Lozovaya // *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – *The Herald of Altai State Agrarian University*. – 2011. – № 7 (81). – P. 60-63.
7. Tkachenko I.V. The influence of polymorphic variants of kappa-casein and growth hormone genes on milk production of Ural-type first-calf heifers. [Vliyaniye polimorfnykh variantov genov kappa-kazeina i gormona rosta na molochnuyu produktivnost pervotelok uralskogo tipa]. / I.V. Tkachenko, S.L. Gridina // *Izvestiya TSKhA. - News TShA*. – 2018. – № 5. – P. 87-95. DOI 10.26897/0021-342X-2018-5-87-95
8. Bekseitov T. Expression of candidate genes of lipid metabolism in the Kazakhstani breeding Simmental cattle / T. Bekseitov, R. Abeldinov, T. Asanbaev, G. Dzhaksybaeva // *Annals of Agrarian Science*. – 2017. – Vol. 15. – P. 443-446. doi.org/10.1016/j.aasci.2017.05.005
9. Pozovnikova M.V. The genetic structure of Ayrshire cattle by single nucleotide DNA markers and the influence of their genotypes on milk productivity. [Geneticheskaya struktura ayrshirskogo skota po odnonukleotidnym DNK-markeram i vliyaniye ikh genotipov na molochnuyu produktivnost]. / M.V. Pozovnikova, O.V. Tulinova, I.A. Pogorelskiy, G.N. Serdyuk // *Genetika i razvedeniye zhivotnykh. - Genetics and animal breeding*. – 2015. – №2. – P. 22-27.
10. Nekrasov D.K. Interrelation of polymorphic variants of prolactin, growth hormone and kappa-casein genes with milk productivity of cows of the Yaroslavl breed. [Vzaimosvyaz polimorfnykh variantov genov prolaktina, gormona rosta i kappa-kazeina s molochnoy produktivnostyu korov yaroslavskoy porody]. / D.K. Nekrasov, A.E. Kolganov, L.A. Kalashnikova, A.V. Semashkin // *Agrarnyy vestnik Verkhnevolzhya. - Agrarian Herald of the Upper Volga*. – 2017. – № 1(18). – P. 40-48.
11. Hazuchová, E. Effect of polymorphisms in the bovine growth hormone gene and impact of inbreeding depression on milk performance traits in Slovak Spotted cattle / E. Hazuchová, N. Moravčíková, O. Kadlečík, A. Trakovická, R. Kasarda, I. Pavlík // *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. – 2013. – V. 2(1). – P. 1324-1334.

Authors:

Safina Natalya Yurevna – researcher, Department of Agrobiological Research, post-graduate student of Biological Chemistry, Physics and Mathematics Department, e-mail: natysafina@gmail.com

Gilemkhanov Ilnaz Yunusovich – post-graduate student of Biological Chemistry, Physics and Mathematics Department, e-mail: ilnaz_gilemkhanov@mail.ru

Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, Kazan, Russia

Zinnatova Farida Fattykhovna – Ph.D. of Biological sciences, leading researcher, e-mail: faridaffz@mail.ru

Shakirov Shamil Kasymovich – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, leading researcher of Department of Agrobiological Research, e-mail: intchkorm@mail.ru

Tatar Scientific Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia.