

М. В. Позовникова, Г. Н. Сердюк, О. В. Митрофанова

Ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов генов-кандидатов *PRL* и β -*LG* с хозяйственно-полезными признаками у коров черно-пестрой породы

Аннотация. В работе представлены результаты генотипирования коров черно-пестрой голштинизированной породы по генам пролактина (*PRL*) и бета-лактоглобулина (β -*LG*) и проведен сравнительный анализ полиморфных вариантов этих генов с хозяйственно полезными признаками коров. Всесторонняя комплексная оценка животного позволяет более точно оценить вклад гена в проявление того или иного количественного признака (молочная продуктивность, рост, развитие, показатели репродуктивного здоровья).

По результатам данного исследования сделан вывод о том, по гену *PRL* наиболее часто встречаемым оказался генотип AA (0,826). Частота аллелей A и B составила 0,906 и 0,094 соответственно. Коровы с гетерозиготным генотипом AB достоверно превосходят коров с гомозиготным генотипом AA по удою за первые 100 дней ($p \leq 0,05$) и 305 дней первой лактации ($p \leq 0,003$), выходу молочного жира ($p \leq 0,001$) и выходу молочного белка (0,004), живой массе при достижении возраста первого осеменения ($p \leq 0,03$). Не установлено достоверной связи различных генотипов гена пролактина с ростом и развитием коров от рождения до 18 месяцев, а также с воспроизводительными показателями (возраст первого осеменения и сервис-период).

По гену β -*LG* наибольшее число животных обладало гетерозиготным генотипом AB (частота встречаемости 0,601). Частота аллелей A и B составила 0,475 и 0,525 соответственно. Коровы с генотипом AA имеют достоверно низкие показатели по удою за 100 дней (AA к BB $p \leq 0,01$) и за 350 дней первой лактации (AA к AB $p \leq 0,001$), выходу жира (AA к AB $p \leq 0,006$, AA к BB $p \leq 0,002$), выходу молочного белка (AA к AB $p \leq 0,001$; AA к BB $p \leq 0,001$), при этом превосходят по показателю процентного содержания жира (AA к AB, AA к BB $p \leq 0,008$) и имеют более короткий срок сервис периода (AA к BB $p \leq 0,01$).

Не установлено влияния гена бета-лактоглобулина на рост и развитие животных.

Ключевые слова: Ген *PRL*, ген β -*LG*, полиморфизм, ПЦР-ПДРФ, молочная продуктивность, рост, развитие животного, репродуктивное здоровье.

Авторы:

Позовникова Марина Владимировна — старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, «Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста"», 196601, г. Санкт-Петербург, п. Тярлево, Московское шоссе, д. 55а; e-mail: marina.qpr@gmail.com;

Сердюк Григорий Николаевич — доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, «Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста"», 196601, г. Санкт-Петербург, п. Тярлево, Московское шоссе, д. 55а; e-mail: labimmggen@mail.ru;

Митрофанова Ольга Викторовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, «Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста"», 196601, г. Санкт-Петербург, п. Тярлево, Московское шоссе, д. 55а; e-mail: mo1969@mail.ru.

Введение. За последние десятилетия прогресс в молекулярной генетике позволил идентифицировать гены-кандидаты хозяйственно полезных признаков животных. Анализ генетических ассоциаций (исследование полиморфизмов в генах-кандидатах) можно рассматривать в качестве ведущего подхода в вопросах совершенствования

селекции сельскохозяйственных животных. В его основе лежит факт множественного действия определенных групп генов в проявлении хозяйственно полезных признаков животного.

На сегодняшний день не существует универсальных ДНК-маркеров хозяйственно ценных признаков КРС. Изучение отдельных популяций

позволит проанализировать как реализуется генетический потенциал животного с учетом факторов внешней среды, что в свою очередь даст возможность совершенствования данной популяции.

Гормон пролактин входит в семейство белковых гормонов, продуцируется клетками передней доли гипофиза, обладает ростостимулирующей, лактогенной активностью [1, 2].

Бета-лактоглобулин — белок семейства липокалинов, составляющий 50% белка молочной сыворотки и около 10% всех белков коровьего молока, является липидсвязывающим белком и переносчиком витамина А [1]. Наивысшая концентрация бета-лактоглобулина определяется в молозиве, что обуславливает его высокую биологическую ценность [3].

Имеющиеся литературные данные показывают, что гены пролактина (*PRL*) и бета-лактоглобулина (β -*LG*) можно рассматривать как гены-кандидаты хозяйственно полезных признаков КРС [4]. Имеется ряд исследований, где показана связь полиморфных вариантов гена β -*LG* с показателями молочной продуктивности и биологической ценности молока [5, 6], и гена *PRL* с хозяйственно полезными признаками: рост, развитие, молочная продуктивность [7, 8].

Цель нашей работы — провести всестороннее исследование по изучению связи полиморфных вариантов генов *PRL* и β -*LG* с молочной продуктивностью, ростом, развитием и с воспроизводительными способностями коров черно-пестрой голштинизированной породы, принадлежащих хозяйству ЗАО «Сумино» Ленинградской области.

Материалы и методы. Для проведения исследования была сформирована выборка коров в количестве 138 голов. ЗАО «Сумино» имеет статус племхоза и является одним из старейших сельхозпредприятий Ленинградской области, а разводимый скот имеет высокий генетический потенциал. В хозяйстве содержатся коровы голштинизированной черно-пестрой породы, по производственному отчету на начало 2017 года средняя продуктивность коров составила 8722 кг молока, 3,64% жира и 3,27% белка. Содержание животных привязное, монокормление: коровы имеют постоянный доступ к сенажу, силосу, в рацион также входят концентрированные корма. Для совершенствования стада используются быки голштинской породы импортного происхождения.

ДНК выделяли из крови животных фенольным методом [9]. Генотипирование образцов проводили по методам, представленным в работах [10, 11]. Амплификацию осуществляли на амплификаторе «Bio-Rad» (T-100 Bio-Rad, Labora-

tories, Inc.). Данные по хозяйственно полезным признакам животных были взяты из электронной базы данных ИАС «Селэкс» ЗАО «Сумино». Для статистической обработки данных использовали стандартные методы [7].

Результаты и обсуждения. По гену *PRL* в анализируемой выборке коров определено три типа генотипов: AA, AB и BB. Их частота составила 0,826, 0,159 и 0,015 соответственно. Более половины анализируемых животных имели в своем генотипе аллель А (частота 0,906), аллель В оказался редким и его частота составила 0,094. Предположительно повышение числа гомозиготных и понижение числа гетерозиготных особей являются результатам инбридинга. Инбридинг увеличивает количество гомозиготных особей в каждом последующем поколении. Показатель ожидаемой гетерозиготности (H_{obs}) — 0,170, критерий Пирсона $\chi^2 = 0,60$. Генное равновесие в данной выборке животных согласно закону Харди-Вайнберга не нарушено.

При анализе полиморфизма гена β -*LG* большинство особей является носителем гетерозиготного генотипа АВ (частота встречаемости 0,601). Частота встречаемости гомозиготных генотипов AA и BB составила 0,174 и 0,225 соответственно. Повышенный уровень гетерозигот косвенно свидетельствует о меньшей вероятности сдвига в сторону гомозиготизации одного из аллелей. Частота аллелей А и В по гену β -*LG* — 0,475 и 0,525 соответственно. Согласно закону распределения частот Харди-Вайнберга ($H_{obs} = 0,499$, критерий Пирсона $\chi^2 = 4,56$) установлено, что в данной популяции животных наблюдается сдвиг генетического равновесия, что является свидетельством селективного влияния среды.

В таблице 1 представлены данные хозяйственно полезных признаков у коров с различными генотипами по гену *PRL*. Сравнение проводилось между группами с генотипами AA и AB, так как всего два животных являются носителями гомозиготного генотипа BB и объем данной группы недостаточен для сравнения. Коровы с гетерозиготным генотипом АВ достоверно превосходят коров с гомозиготным генотипом AA по следующим показателям молочной продуктивности: удой за первые 100 дней (+144 кг, $p \leq 0,05$) и за 305 дней первой лактации (+524 кг, $p \leq 0,003$), удой выход молочного жира (+20,6 кг, $p \leq 0,001$) и выход молочного белка (+18,2 кг, $p \leq 0,004$).

Анализируя показатели роста и развития, а также промеры животных, можно сказать, что коровы как с генотипом AA так и с генотипом АВ не имели достоверных различий за исключением показателя живой массы при достижении возраста первого осеменения (AB к AA +12,5 кг, $p \leq 0,03$).

В результате проведенного исследования не установлено достоверной связи между различными генотипами гена *PRL* и признаками, характеризующими воспроизводительные функции коров (возраст первого осеменения и продолжительность сервис-периода).

Показатели хозяйственно полезных признаков групп животных с разными генотипами гена *β-LG* представлены в таблице 2. Животные с гомозиготным генотипом АА имеют достоверно низкие показатели по удою за 100 дней (АА к ВВ $p \leq 0,01$) и за 350 дней первой лактации (АА к АВ

Таблица 1. Показатели хозяйственно полезных признаков групп животных с разными генотипами гена *PRL*

Показатель	Генотип		
	АА=114	АВ=22	ВВ=2
ЖМ при рождении, кг	31,0±0,2	30,2±0,5	29,0±1,0
ЖМ 6 мес., кг	183,1±1,8	185,1±3,8	191,5±3,5
ЖМ 10 мес., кг	287,1±2,0	285,5±5,6	292,0±0,1
ЖМ 12 мес., кг	336,8±2,4	336,4±6,5	342,5±0,5
ЖМ 18 мес., кг	479,1±2,4	482,4±6,7	474,5±16,5
ЖМ, возраст 1-го осеменения, кг	420,8±3,1 а	433,3±4,8 б	420,5±25,5
ЖМ при достижении возраста 1-й лактации, кг	588,3±3,2	586,7±6,1	550,0±50,0
Высота в холке, см	140,9±0,3	141,2±0,9	143,5±3,5
Косая длина туловища, см	170,8±0,6	169,7±1,7	170,0±1,0
Обхват груди за лопатками, см	193,4±0,6	195,6±1,3	194,0±6,0
Удой за 305 дн., кг	7993±72 с	8517±160 d	8158±350
Удой за 100 дн., кг	2892±28 е	3036±69 f	3034±152
Жир, %	3,65±0,01	3,67±0,02	3,72±0,01
Жир, кг	291,9±2,5 g	312,5±5,2 h	303,9±14,2
Белок, %	3,19±0,01	3,20±0,03	3,15±0,01
Белок, кг	255,0±2,5 k	273,2±5,8 l	257,4±12,2
Возраст 1-го осеменения, мес.	15,2±0,1	15,6±0,2	15,0±1,0
Сервис-период, дн.	129,9±7,7	138,0±14,4	176,5±38,5

Примечание: ЖМ — живая масса; а к б $p \leq 0,03$; с к d $p \leq 0,003$; е к f $p \leq 0,05$; g к h $p \leq 0,001$; k к l $p \leq 0,004$.

Таблица 2. Показатели хозяйственно полезных признаков групп животных с разными генотипами гена *β-LG*

Показатель	Генотип		
	АА=23	АВ=83	ВВ=32
ЖМ при рождении, кг	30,7±0,5	31,0±0,3	30,5±0,6
ЖМ 6 мес., кг	183,9±2,8	184,6±2,0	181,4±3,8
ЖМ 10 мес., кг	289,4±3,1	287,2±2,4	285,6±4,9
ЖМ 12 мес., кг	340,5±4,2	334,5±3,0	335,1±5,8
ЖМ 18 мес., кг	479,2±5,6	477,9±3,7	473,1±5
ЖМ, возраст 1-го осеменения, кг	424,9±4,4	422,0±4,1	428,1±3,4
ЖМ при достижении возраста 1-й лактации, кг	586,9±6,4	590,5±3,6	591,1±5,9
Высота в холке, см.	139,3±0,9	142,2±0,3	139,8±0,7
Косая длина туловища, см.	169,7±1,4	171,7±0,8	169,3±1,3
Обхват груди за лопатками, см.	194,8±1,5	193,4±0,6	195,1±1,1
Удой за 305 дн., кг	7609±140 а	8293±89 б	8412±131 с
Удой за 100 дн., кг	2825±67 d	2935±33	3032±54 е
Жир, %	3,71±0,02 f	3,65±0,01 g	3,65±0,01 g
Жир, кг	282,5±5,9 h	300,8±2,86 i	306,3±4,8 k
Белок, %	3,19±0,02	3,19±0,01	3,20±0,02
Белок, кг.	243,1±5,3 l	265,0±3,0 m	269,2±5,0 n
Возраст 1-го осеменения, мес.	15,3±0,2	15,1±0,1	15,6±0,2
Сервис-период, дн.	115,1±11,1 о	134,7±8,4	168,7±18,9 p

Примечание: ЖМ — живая масса; а к б $p \leq 0,001$; а к с $p \leq 0,001$; d к е $p \leq 0,01$; f к g $p \leq 0,008$; h к i $p \leq 0,006$; h к k $p \leq 0,002$; l к m $p \leq 0,001$; l к n $p \leq 0,001$; о к p $p \leq 0,01$.

$p \leq 0,001$; AA к BB $p \leq 0,001$), выходу жира, кг (AA к AB $p \leq 0,006$, AA к BB $p \leq 0,002$), выходу молочного белка, кг (AA к AB $p \leq 0,001$; AA к BB $p \leq 0,001$), при этом превосходят по показателю процентного содержания жира (AA к AB, AA к BB $p \leq 0,008$).

Полученные нами данные не выявили различия между группами животных с разными генотипами гена β -LG по показателям живой массы от рождения до достижения возраста первой лактации, а также по показателям промеров.

В нашем исследовании животные с генотипом BB гена β -LG, отличаются более продолжительным сервис периодом (BB к AA +53,6 дней, $p \leq 0,01$).

Выводы.

1. В выборке коров ЗАО «Сумино» голштинизированной черно-пестрой породы наиболее часто встречаются коровы с гомозиготным генотипом AA (0,826) гена *PRL*. По гену β -LG преобладают животные с гетерозиготным генотипом AB (0,601).
2. Коровы с гетерозиготным генотипом AB гена *PRL* достоверно превосходят коров с гомозиготным генотипом AA по следующим показателям молочной продуктивности: удой за первые 100 дней (+144 кг, $p \leq 0,05$) и за 305 дней первой лактации (+524 кг, $p \leq 0,003$), удой выход молочного жира (+20,6 кг, $p \leq 0,001$) и выход молочного белка (+18,2 кг, $p \leq 0,004$).
3. Сравнение группы коров с генотипом AA гена *PRL* с коровами с генотипом AB по показателям роста и развития не выявило достоверных различий за исключением показателя живой массы при достижении возраста первого осеменения (AB к AA +12,5 кг, $p \leq 0,03$).
4. Не установлено связи различных генотипов гена *PRL* с показателями, характеризующими воспроизводительные функции коров (возраст первого осеменения и продолжительность сервис-периода).
5. По гену β -LG животные с генотипом AA имеют достоверно низкие показатели по удою за 100 дней (AA к BB $p \leq 0,01$) и за 350 дней первой лактации (AA к AB $p \leq 0,001$; AA к BB $p \leq 0,001$), выходу жира, кг (AA к AB $p \leq 0,006$, AA к BB $p \leq 0,002$), выходу молочного белка, кг (AA к AB $p \leq 0,001$; AA к BB $p \leq 0,001$), при этом превосходят по показателю процентного содержания жира (AA к AB, AA к BB $p \leq 0,008$).
6. Животные с генотипом BB гена β -LG, отличаются более продолжительным сервис периодом (BB к AA +53,6 дней, $p \leq 0,01$).
7. Не определено различий между группами животных с разными генотипами гена β -LG по показателям живой массы от рождения до достижения возраста первой лактации, а также по показателям промеров.

Литература

1. Осипов А. П., Аксенова В. М. Физиология эндокринной системы: Методическое пособие для студентов зооинженерного и ветеринарного факультетов, Пермь: ФГОУ ВПО «Пермская ГСХА», 2007.
2. Moriyama, S. Genomic structure of the sea lamprey growth hormone-encoding gene / S. Moriyama, M. Oda, A. Takahashi, S. A. Sower, H. Kawauchi // General and comparative endocrinology. — 2006. — №. 148 (1). — С. 33–40.
3. Набоков З. И. Молозивный период — важный фактор оценки конституции коров / З. И. Набоков, А. Ю. Шантыз // Труды Кубанского государственного аграрного университета. — 2014. — № 1 (46). — С. 185–189.
4. Ogorevc J. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis / J. Ogorevc, T. Kunej, A. Razpet, P. Dovc // Animal Genetics. — 2009. — № 40. — P. 832–851. doi:10.1111/j.1365-2052.2009.01921.x
5. Зарипов О. Г. Генотипирование крупного рогатого скота по генам бета-лактоглобулина и каппа-казеина методами ДНК-технологии. Автореф. канд. биол. наук, Казань, 2010.
6. Позовникова М. В. Генетическая структура коров молочных пород по ДНК-маркерам и влияние их генотипов на молочную продуктивность / М. В. Позовникова, О. В. Тулинова, Г. Н. Сердюк, И. А. Погорельский // Молочное и мясное скотоводство. — 2016. — № 2. — С. 8–13.
7. Перчун А. В. Оценка костромской породы крупного рогатого скота по ДНК-маркерам хозяйственно-полезных признаков. Автореф. канд. биол. наук. П. Караваево, Костромская область, 2015.
8. Patel J. B. Polymorphism of the Prolactin Gene and Its Relationship with Milk Production in Gir and Kankrej Cattle / J. B. Patel, J. B. J. Chauhan // Nat. Sci. Biol. Med. — 2017. — № 8 (2). — С. 167–170.
9. Использование современных молекулярно-генетических методов в генотипировании сельскохозяйственных животных: Методическое пособие / Терлецкий В. П., Племяшов К. В., Тыщенко В. И., Дементьева Н. В. СПб-Пушкин, 2014.

10. Mitra A. Polimorphism at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo / A. Mitra, P. Schlee, C. R. Balakrishnan, F. Pirchner // J. Anim. Breed. Genet. — 1995. — № 112. — С. 71–74.
11. Medrano J. F. Polymerase chain reaction amplification of bovine β -lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis / J. F. Medrano, E. Aguilar-Cordova // Animal biotechnology. — 1999. — № 1 (1). — С. 73–77.

Pozovnikova M. V., Serdjuk G. N., Mitrofanova O. V.

Association of single nucleotide polymorphisms of *PRL* and β -*LG* candidate genes with utility characteristics in black-and-white breed cows

Abstract. *The paper presents the results of genotyping of cows of black-and-white Holsteinized breed in the genes of prolactin (PRL) and beta-lactoglobulin (β -LG) and a comparative analysis of polymorphic variants of these genes with economically useful signs of cows is carried out. Comprehensive integrated assessment of the animal allows more accurate identify the contribution of the gene to the manifestation of a particular quantitative trait (milk production, growth, development, reproductive health indicators).*

Based on the results of this study, it was concluded that the genotype of AA (0.826) was the most frequently found on the PRL gene. The frequency of alleles A and B was 0.906 and 0.094, respectively. Cows with heterozygous genotype AB significantly exceed cows with a homozygous genotype AA for milk for the first 100 days ($p \leq 0.05$) and 305 days of first lactation ($p \leq 0.003$), milk fat yield ($p \leq 0.001$), and milk protein yield (0.004), live weight when the age of the first insemination is reached ($p \leq 0.03$). There is no reliable association of different genotypes of the prolactin gene with the growth and development of cows from birth to 18 months, as well as with reproductive indicators (age of first insemination and service period).

For the β -LG gene, the largest number of animals possessed the heterozygous genotype AB (incidence rate 0.601). The frequency of alleles A and B was 0.475 and 0.525, respectively. Cows with the AA genotype have significantly low milk yields for 100 days (AA to BB $p \leq 0.01$) and for 350 days of the first lactation (AA to AB $p \leq 0.001$), fat yield (AA to AB $p \leq 0.006$, AA to BB $p \leq 0.002$), the yield of milk protein (AA to AB $p \leq 0.001$, AA to BB $p \leq 0.001$), while exceeding the percentage of fat (AA to AB, AA to BB $p \leq 0.008$) and have a shorter period service period (AA to BB $p \leq 0.01$).

The effect of the beta-lactoglobulin gene on the growth and development of animals has not been established.

Keywords: *PRL gene, β -LG gene, polymorphism, PCR-RFLP, milk production, growth, animal development, reproductive health.*

Authors:

Pozovnikova Marina Vladimirovna — researcher of the laboratory of Immunogenetics of the Russian research institute of farm animal genetics and breeding — branch of the L. K. Ernst Federal science center for animal husbandry, St.Petersburg, p. Tjarlevo, Moskovskoe shosse 55a; 196601; e-mail: marina.qpr@gmail.com;

Serdjuk Grigoriy Nikolaevich — Dr. Habil. (Biol. Sci.), Professor, Leading researcher of laboratory of Immunogenetics of the Russian research institute of farm animal genetics and breeding — branch of the L. K. Ernst Federal science center for animal husbandry, St.Petersburg, p. Tjarlevo, Moskovskoe shosse 55a; 196601; e-mail: labimmgen@mail.ru.

Mitrofanova Olga Viktorovna — PhD (Biol. Sci.), senior researcher of the Laboratory of Molecular Genetics of the Russian research institute of farm animal genetics and breeding — branch of the L. K. Ernst Federal science center for animal husbandry, St.Petersburg, p. Tjarlevo, Moskovskoe shosse 55a; 196601; email: mo1969@mail.ru.