

Минск: ИВЦ Минфина. 2007. – С. 29-41. 5. Медведев, П.Ф. Кормовые растения Европейской части СССР / П.Ф. Медведев, А.М. Сметанникова. - Ленинград: Колос, 1981.- 336с. 6. Медведев, П. Ф. О системе интродукции кормовых растений / П. Ф. Медведев // Новые кормово-силосные растения / отв. ред. Н. В. Смольский. – Минск : Наука и техника, 1965. – С. 33–36. 7. Медведев, П. Ф. Семеноводство новых кормовых культур / П. Ф. Медведев. – Л. : Колос, 1974. – 144с. 8. Методические указания по проведению полевых опытов с кормовыми культурами / МСХ СССР, Всесоюзный научно-исследовательский институт кормов им. В. Р. Вильямса. – М., 1983. – 197с. 9. Методические указания по селекции многолетних трав / МСХ СССР, Всесоюзный научно-исследовательский институт кормов им. В. Р. Вильямса. – М., 1985. – 187с. 10. Методика испытания сортов растений на отличимость, однородность и стабильность / Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений, М-во сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь; авт. сост.: В.В. Фандо и др.- Минск, 2004, 274с. 11. Павлов, В. С. Новые и малораспространенные кормовые культуры / В. С. Павлов. – Ленинград: 1974. – 49с. 12. Утеуш, Ю. А. Новые перспективные кормовые культуры / Ю. А. Утеуш. – Киев: Наукова думка, 1991. – 192с.

Статья передана в печать 24.08.2015 г.

УДК577.21:234.1.082.2

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ bPit-1, bGH, bIGF-1 И bGHR НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Зяц О.В., Линник Л.М., Ковалевская Т.А., Смок А.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Проведение оценки генетического потенциала молочной продуктивности крупного рогатого скота по генетическим маркерам позволит начать внедрение методов генетического анализа в практическое животноводство в племенных животноводческих хозяйствах Витебской области и существенно увеличить производство молока, а также продуктов его переработки.*

*The assessment of the genetic potential of milk productivity of the cattle in genetic markers will allow to start the introduction of methods of genetic analysis into practical animal husbandry at breeding livestock farms of Vitebsk region and significantly increase milk production and also products of its processing.*

**Ключевые слова:** полиморфизм, молочная продуктивность, селекция, содержание жира, содержание белка.

**Keywords:** polymorphism, milk productivity, breeding, fat content, protein content.

**Введение.** Успех селекционной работы в значительной степени зависит от точности определения племенной ценности животных. В связи с этим возрастает значение методов, позволяющих выявлять лучших животных и прогнозировать их племенные качества в раннем возрасте.

Достижения современной молекулярной генетики позволяют определять гены, контролируемые хозяйственно-полезные признаки. Выявление вариантов генов позволит дополнительно к традиционному отбору животных проводить селекцию непосредственно на уровне ДНК. Преимущество ДНК-технологий заключается в том, что можно определить генотип животного независимо от пола, возраста и физиологического состояния, что является важным фактором в селекционной работе.

В качестве потенциальных маркеров молочной продуктивности могут рассматриваться аллели генов молочных белков и гормонов. Ген bPit-1 связан с белковомолочностью и технологическими свойствами молока. Аллель bPit-1-HinFI<sup>A</sup> ассоциирован с преимуществом по удою и более высоким качеством молока [3].

Соматотропин (гормон роста, GH) - важнейший регулятор, обладающий лактогенным и жиромобилизующим действием. Рядом исследователей [1] выявлена ассоциация полиморфных вариантов гена GH с показателями продуктивности (удой, содержание жира в молоке).

Ген bIGF-1 отвечает за белковомолочность и показатель биологической ценности молока. Варианты bIGF-1-SnaBI<sup>AB</sup> и bIGF-1-SnaBI<sup>AA</sup> связаны с высоким содержанием в молоке казеиновых и сывороточных белков.

Исследователями отмечается значительная ассоциация полиморфизма bGHR-SspI с некоторыми параметрами молочной продуктивности и составом молока [2]. По их данным, животные-обладатели аллеля bGHR-SspI<sup>F</sup> характеризовались более высокой общей продуктивностью молока, в то время как у особей-носителей аллеля bGHR-SspI<sup>F</sup> общая продуктивность была ниже, а процентное содержание белка и жира в молоке было более высоким.

Данные научных публикаций свидетельствуют о возможности использования генов bPit-1, bIGF-1, bGHR и GH в качестве ДНК-маркеров молочной продуктивности, жирномолочности, белковомолочности крупного рогатого скота, однако исследования носят обособленный характер, нет данных о комплексном использовании их в оценке животных [1]. Это направление и стало темой наших исследований.

Цель и задачи исследований. Цель исследований заключается в изучении полиморфизма генов bPit-1, bIGF-1, bGHR и GH у крупного рогатого скота и влияния генотипов на молочную продуктивность.

**Материалы и методы исследований.** Исследования проведены в лаборатории ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси». Материалом для исследований послужила кровь коров белорусской черно-пестрой породы из хозяйств ОАО «Возрождение» и ОАО «Ольговское» Витебского района. Кровь

для выделения ДНК отбирали из яремной вены в объеме 5 мл в вакуумные пробирки с сухим ЭДТА К3.

Относительные частоты аллелей анализируемых генов (P(A)) определяли методом прямого подсчета по формуле 5:

$$P(A) = (2N_1 + N_2) / 2n, \quad (5)$$

где: N<sub>1</sub> – число гомозиготных особей по исследуемому аллелю;

N<sub>2</sub> – число гетерозигот;

n – объем выборки.

Статистическую ошибку (Sp) относительных частот аллелей генов вычисляли по формуле:

$$Sp = (\sqrt{pq}) / n,$$

где p – частота исследуемого аллеля;

$$q = 1 - p;$$

n – объем выборки.

Сравнение выборок по распределению частот аллельных вариантов исследуемых генов проводили с помощью критерия  $\chi^2$ . Число степеней свободы - 1.

Соответствие фактического распределения генотипов теоретически ожидаемому оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ . Число степеней свободы равняется числу генотипов минус число аллелей.

$$\chi^2 = \sum (N_o - N_e) / N_e, \quad (6)$$

где: N<sub>o</sub> – наблюдаемые частоты генотипов;

N<sub>e</sub> – ожидаемые частоты генотипов;

$$AA = p^2;$$

$$AB = 2pq;$$

$$BB = q^2.$$

Удой, содержание жира и белка (кг, %) в молоке оценивали за 305 дней первой лактации по данным зоотехнического учёта (форма 2-мол). Статистическую обработку результатов проводили в программе «Microsoft Excel 2010». Достоверность попарных различий между средними значениями признаков оценивали с использованием критерия Стьюдента.

**Результаты исследований.** Результаты исследования относительных частот аллельных вариантов генов соматотропинового каскада у животных черно-пестрой и голштинской пород представлены в таблице 1.

**Таблица 1 - Полиморфизм гена bPit-1**

Хозяйство		n	AA		AB		BB		Частота аллелей		$\chi^2$
			n	%	n	%	n	%	A	B	
Возрождение	Н	84	7	8,3	26	31,0	51	60,7	0,24	0,76	0,660
	О		5	5,7	30	36,3	49	58,0			
Ольговское	Н	26	2	7,7	16	61,5	8	30,8	0,38	0,62	-
	О		4	14,8	12	47,3	10	37,9			
<b>Всего</b>	Н	<b>110</b>	<b>9</b>	<b>8,2</b>	<b>42</b>	<b>38,2</b>	<b>59</b>	<b>53,6</b>	<b>0,27</b>	<b>0,73</b>	<b>0,112</b>
	О		<b>8</b>	<b>7,4</b>	<b>44</b>	<b>39,7</b>	<b>58</b>	<b>52,9</b>			

Наиболее ценным генотипом, ассоциированным с повышенным удоем молока, является генотип AA-bPit-1. Проведен анализ генетической структуры популяций крупного рогатого скота по племенным хозяйствам Витебской области по гену гипофизарно-специфического фактора транскрипции bPit-1. Показано, что частота предпочтительного генотипа AA-bPit-1 в исследуемых образцах животных ОАО «Возрождение» составляет 8,3%, ОАО «Ольговское» – 7,7.

Самая высокая частота встречаемости аллеля А была выявлена в популяции коров ОАО «Возрождение» и составила 38%.

Полиморфизм гена bIGF-1 у коров племенных хозяйств представлен в таблице 2.

**Таблица 2 - Полиморфизм гена bIGF-1 у коров**

Хозяйство		n	AA		AB		BB		Частота аллелей		$\chi^2$
			n	%	n	%	n	%	A	B	
Возрождение	Н	86	20	23,3	47	54,7	19	22,0	0,51	0,49	0,374
	О		22	25,6	43	50,0	21	24,4			
Ольговское	Н	113	33	29,2	61	54,0	19	16,8	0,56	0,43	0,444
	О		36	31,6	56	49,5	21	18,9			
<b>Всего</b>	Н	<b>199</b>	<b>53</b>	<b>26,6</b>	<b>108</b>	<b>54,3</b>	<b>38</b>	<b>19,1</b>	<b>0,54</b>	<b>0,46</b>	<b>0,818</b>
	О		<b>58</b>	<b>28,9</b>	<b>99</b>	<b>49,7</b>	<b>42</b>	<b>21,3</b>			

Из 199 коров 53 коровы имели генотип AA, 108 коров – генотип AB, 38 коров – генотип BB. Частота гомозиготного генотипа AA составила 26,6%, гетерозиготного генотипа AB – 54,3%, гомозиготного генотипа BB – 19,1%. Частота аллеля А достигла 0,54, аллеля В – 0,46 (таблица 2).

Результаты сравнения распределения частот аллельных вариантов гена bGHR в популяциях коров голштинской и черно-пестрой пород представлены в таблице 3.

**Таблица 3 - Полиморфизм гена bGHR у коров**

Хозяйство	n	FF		FY		YY		Частота аллелей		$\chi^2$
		n	%	n	%	n	%	F	Y	
Возрождение	H	73	86,9	10	11,9	1	1,2	0,93	0,07	-
	O	72	85,7	11	13,1	1	1,2			
Ольговское	H	15	57,7	9	34,6	2	7,7	0,75	0,25	-
	O	14	56,3	10	36,0	2	7,7			
<b>Всего</b>	H	<b>88</b>	<b>80,0</b>	<b>19</b>	<b>17,3</b>	<b>3</b>	<b>2,3</b>	<b>0,89</b>	<b>0,11</b>	-
	O	<b>87</b>	<b>79,1</b>	<b>22</b>	<b>20,1</b>	<b>1</b>	<b>0,8</b>			

В ходе изучения SsPI-полиморфизма гена рецептора гормона роста bGHR нами выявлены 88 особей с генотипом bGHR-Sspl<sup>FF</sup>, 19 особей с генотипом bGHR-Sspl<sup>FY</sup> и 3 коровы с генотипом bGHR-Sspl<sup>YY</sup>. Частота встречаемости гена bGHR<sup>F</sup> составила 89,0%, bGHR<sup>Y</sup> – 11,0%.

Результаты сравнения распределения частот аллельных вариантов гена bGH в популяциях коров голштинской и черно-пестрой пород представлены в таблице 4.

**Таблица 4 - Полиморфизм гена bGH у коров**

Хозяйство	n	LL		LV		VV		Частота аллелей		$\chi^2$
		n	%	n	%	n	%	L	V	
Возрождение	H	2	100	-	-	-	-	1	0	-
	O	-	-	-	-	-	-			
Ольговское	H	53	60,9	33	37,9	1	1,2	0,80	0,20	-
	O	56	63,8	28	32,1	3	4,1			
<b>Всего</b>	H	<b>55</b>	<b>61,8</b>	<b>33</b>	<b>37,1</b>	<b>1</b>	<b>1,1</b>	<b>0,80</b>	<b>0,20</b>	-
	O	<b>58</b>	<b>64,5</b>	<b>28</b>	<b>31,6</b>	<b>3</b>	<b>3,9</b>			

Проведенный генетический анализ структуры популяций коров по гену bGH показал, что частота предпочтительного генотипа bGH<sup>LV</sup> в исследуемых образцах крови животных составляет 37,1%. Наибольшее количество животных имеют генотип bGH<sup>LL</sup>, на них приходится 61,8%.

Данные о продуктивности особей с различными генотипами по полиморфизму bPit-1-HinFI у коров черно-пестрой и голштинизированной породы представлены в таблице 5.

**Таблица 5 - Молочная продуктивность коров разных генотипов по гену bPit-1**

Генотип	n	Удой, кг	Содержание жира, %	Содержание белка, %
bPit-1-HinFI <sup>AA</sup>	2	4320	3,61	3,00
bPit-1-HinFI <sup>AB</sup>	25	4816±230*	3,64±0,01*	3,03±0,04*
bPit-1-HinFI <sup>BB</sup>	41	4373±139	3,66±0,01	2,99±0,02
Общая выборка	68	4514±228	3,66±0,02	3,00±0,4

Примечание. \* - достоверность при  $p < 0,05$ .

По данным, представленным в таблице 5, можно отметить, что наиболее распространенный аллель bPit-1-HinFI<sup>B</sup> является предпочтительным по трем исследуемым признакам. Особи с генотипом bPit-1-HinFI<sup>AB</sup> характеризуются более высокими показателями удоя и белковомолочности по сравнению с особями с генотипом bPit-1-HinFI<sup>BB</sup>. Превышение значений медиан у группы с генотипом bPit-1-HinFI<sup>AB</sup>, по сравнению с группой с генотипом bPit-1-HinFI<sup>BB</sup>, составляет 443 л молока и 0,04% молочного белка по признакам удоя и белковомолочности соответственно. Наибольшее содержание жира в молоке было выявлено у особей с генотипом bPit-1-HinFI<sup>BB</sup>, по которому они превосходили особей с генотипом bPit-1-HinFI<sup>AB</sup> на 0,02%.

Молочная продуктивность коров с разными генотипами по гену bGH представлена в таблице 6.

**Таблица 6 - Молочная продуктивность коров разных генотипов по гену bGH**

Генотип	n	Удой, кг	Содержание жира, %	Содержание белка, %
bGH-AluI <sup>VV</sup>	-	-	-	-
bGH-AluI <sup>LV</sup>	18	5830±145*	3,69±0,02*	3,29±0,02
bGH-AluI <sup>LL</sup>	23	5301±217	3,65±0,02	3,26±0,03
Общая выборка	41	5533±156	3,67±0,01	3,27±0,02

Примечание. \* - достоверность при  $p < 0,05$ .

В среднем удой коров за лактацию в группе животных с генотипом bGH<sup>LV</sup> составил 5830 кг, bGH<sup>LL</sup> – 5301 кг. Коровы с генотипом bGH<sup>LL</sup> уступали сверстницам на 529 кг ( $P < 0,05$ ) молока.

По содержанию жира в молоке коровы с гетерозиготным генотипом  $bGH^{LV}$  незначительно превосходили аналогов с гомозиготным вариантом ( $bGH^{LL}$ ) на 0,04%. Полученные результаты также показали, что коровы с генотипом  $bGH^{LV}$  превосходили по содержанию белка в молоке животных с гомозиготным генотипом  $bGH^{LL}$  на 0,03%. Таким образом, коровы белорусской черно-пестрой породы с генотипом  $bGH-AluI^{LV}$  по первой и наивысшей лактации были достоверно более обильномолочными, имели наибольший выход молочного жира и белка.

Результаты оценки достоверности различий между группами животных с разными генотипами по полиморфизму гена  $bIGF-1-SnaBI$  по показателям молочной продуктивности приведены в таблице 7.

**Таблица 7 - Молочная продуктивность коров разных генотипов по гену  $bIGF-1$**

Генотип	n	Удой, кг	Содержание жира, %	Содержание белка, %
$bIGF-1-SnaBI^{AA}$	25	4916±165	3,67±0,01	3,11±0,02
$bIGF-1-SnaBI^{AB}$	61	4955±118	3,68±0,01	3,13±0,02
$bIGF-1-SnaBI^{BB}$	23	5127±229*	3,64±0,02	3,11±0,03
Общая выборка	109	4967±79	3,66±0,04	3,12±0,01

По данным, приведенным в таблице 7, можно отметить, что в случае  $SnaBI$ -полиморфизма гена  $bIGF-1$  предпочтительный генотип  $bIGF-1-SnaBI^{BB}$  по признаку удоя статистически значимо ( $\alpha = 0,05$ ) отличается от альтернативного генотипа  $bIGF-1-SnaBI^{AA}$ , а также от гетерозиготного генотипа  $bIGF-1-SnaBI^{AB}$  ( $\alpha = 0,05$ ). Результаты оценки характера фенотипического эффекта  $SnaBI$ -полиморфизма гена  $bIGF-1$  на признаки удоя, жирномолочности и белкомолочности позволяют охарактеризовать его как повышающий по всем трем признакам. Разница в показателях продуктивности животных с предпочтительным генотипом  $bIGF-1-SnaBI^{BB}$  и общей выборкой составляет 160 л молока. Особи с гетерозиготным генотипом  $bIGF-1-SnaBI^{AB}$  имеют наивысшие значения по содержанию жира и белка, по которым они превосходят животных с генотипом  $bIGF-1-SnaBI^{BB}$  соответственно на 0,04 и 0,02%, однако эти различия не имеют статистически достоверной разницы.

Молочная продуктивность коров, оцененных по гену  $bGHR$ , представлена в таблице 8.

**Таблица 8 - Молочная продуктивность коров разных генотипов по гену  $bGHR$**

Генотип	n	Удой, кг	Содержание жира, %	Содержание белка, %
$bGHR-Sspl^{FF}$	53	4347±122	3,65±0,01	2,97±0,02
$bGHR-Sspl^{FY}$	12	5640±260***	3,67±0,02	3,18±0,04
$bGHR-Sspl^{YY}$	3	4638±333	3,83±0,10	3,24±0,23
Общая выборка	68	4626±103	3,66±0,01	3,03±0,02

По данным, приведенным в таблице 8, можно отметить, что наиболее предпочтительным генотипом является вариант  $bGHR-Sspl^{FY}$ , у животных данного генотипа удой превышает общую выборку на 21,9%. Наивысшее содержание жира и белка отмечено у животных с генотипом  $bGHR-Sspl^{YY}$ , по которым они превосходят среднее значение выборки соответственно на 0,17 и 0,21%.

**Заключение.** Нами изучена взаимосвязь аллельных вариантов генов  $bPit-1$ ,  $bGH$ ,  $bIGF-1$  и  $bGHR$  с признаками молочной продуктивности у коров белорусской черно-пестрой и голштинской пород для оценки возможности применения данных генов в качестве генетических маркеров повышенной молочной продуктивности.

В качестве универсальных маркеров для использования в селекции наибольший практический интерес представляют генотипы, которые характеризуются повышенными по отношению к общей выборке показателями удоя, белково- и жирномолочности. По результатам исследований  $AluI$ -полиморфизма гена гормона роста  $bGH$  следует отметить генотип  $bGH-AluI^{LV}$  как предпочтительный по признакам удоя, белково- и жирномолочности.

Исследования  $Sspl$ -полиморфизма гена рецептора гормона роста  $bGHR$  показало, что по двум признакам молочной продуктивности: жирномолочность и белкомолочность предпочтительным генотипом является  $bGHR-Sspl^{FY}$ , генотип  $bGHR-Sspl^{FY}$  является наиболее предпочтительным по удою.

Анализ ассоциации  $SnaBI$ -полиморфных вариантов гена инсулиноподобного фактора роста 1  $bIGF-1$  показал, что предпочтительным по двум признакам молочной продуктивности (жирномолочность, белкомолочность) является генотип  $bIGF-1-SnaBI^{AB}$ .

Оценка взаимосвязи различных вариантов гена  $bPit-1$  показала, что животные, обладающие генотипом  $bPit-1-HinFI^{AB}$ , отличаются наибольшим удоем и повышенным содержанием белка в молоке.

**Литература.** 1. Михайлова, М. Е. Влияние полиморфных вариантов генов соматотропинового каскада ( $bPit-1$ ,  $bPrI$ ,  $bGH$ ,  $bGHR$ ,  $bIGF-1$ ) на признаки молочной продуктивности крупного рогатого скота черно-пестрой породы белорусского разведения / М. Е. Михайлова, Е. В. Белая, Н. М. Волчок // Научный вестник Национального университета биоресурсів і природокористування України. – 2011. – № 160. – С. 273–280. 2. Molecular Dissection of a Quantitative Trait Locus. A phenylalanine-to-tyrosine substitution in the transmembrane domain of the bovine growth hormone receptor is associated with a major effect on milk yield and composition // S. Blott [et al.] // Genetics. - 2003. - Vol. 163. - P. 253-266., 3. Zwierzchowski L., Krzyzewski J., Strzalkowska N. et al. Effects of polymorphism of growth hormone (GH), Pit-1, and leptin (LEP) genes, cow's age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of Polish Black-and-White cows // Anim. Sci. Papers and Reports. 2002. V. 20. P. 213-227.

Статья передана в печать 06.10.2015 г.