

УДК 636.22/.28.082.2(476.6)

**ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ БЕТА-ЛАКТОГЛОБУЛИНА
И ПРОЛАКТИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ
МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КОРОВ
БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ**

О. А. Епишко, В. В. Пешко, Н. Н. Пешко

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28

e-mail: valik-11@mail.ru)

***Ключевые слова:** ген бета-лактоглобулина, ген пролактина, молочная продуктивность, крупный рогатый скот.*

***Аннотация.** В популяции коров белорусской черно-пестрой породы установлен полиморфизм генов бета-лактоглобулина и пролактина. Выявлены генотипы LGB^{AA} , LGB^{AB} , LGB^{BB} , PRL^{AA} , PRL^{AB} , PRL^{BB} . Определена частота встречаемости аллелей и генотипов по генам бета-лактоглобулина и пролактина. Изучены показатели молочной продуктивности коров с различными генотипами по генам бета-лактоглобулина. Установлено, что животные с генотипом LGB^{BB} существенно превосходили коров с генотипом LGB^{AB} и LGB^{AA} по удою, белково-молочности и выходу молочного белка.*

**INFLUENCE OF GENES BETA-LACTOGLOBULIN AND
PROLACTIN ON THE INDICATORS OF DAIRY PRODUCTIVITY
COWS OF THE BELARUSSIAN BLACK-MOTLEY BREED**

O. A. Epishko, V. V. Peshko, N. N. Peshko

EI «Grodno State Agrarian University»

(Belarus, Grodno, 230008, 28 Tereshkova st.; e-mail: valik-11@mail.ru)

***Key words:** beta-lactoglobulin gene, prolactin gene, milk production, cattle.*

***Summary.** In the population of cows of the Belarusian black and motley breed, the polymorphism of the genes of beta-lactoglobulin and prolactin has been established. The genotypes LGB^{AA} , LGB^{AB} , LGB^{BB} , PRL^{AA} , PRL^{AB} , PRL^{BB} were revealed. The incidence of alleles and genotypes in the genes of beta-lactoglobulin and prolactin was determined. The indicators of milk productivity of cows with different genotypes for beta-lactoglobulin genes have been studied. It was established that animals with the LGB^{BB} genotype significantly exceeded the cows with the genotype LGB^{AB} and LGB^{AA} for milk yield, protein milk and milk protein yield.*

(Поступила в редакцию 29.04.2017 г.)

Введение. Современное сельское хозяйство требует значительно ускорения процесса создания новых сортов растений и пород животных, которые бы сочетали в себе высокую продуктивность с приспособленностью к унифицированным промышленным технологиям. В ряде случаев селекция по большинству хозяйственно полезных признаков достигла биологически возможной верхней границы, где традиционные методы дальнейшего усовершенствования селекционного материала являются малоэффективными [1]. К тому же производство молока высокого качества – сложный технологический процесс, связанный с решением комплекса зоотехнических, ветеринарных, технологических и экономических вопросов [2].

Проведение селекционно-племенной работы и ее эффективность в молочном скотоводстве зависит от многих факторов: технологических (условия содержания, оптимальное кормление), средовых (создание условий для проявления генотипа в фенотипе) и генетических (получение животных с высоким наследственным потенциалом) [3]. Поэтому в настоящее время племенная работа наряду с традиционными методами должна включать достижения в области генетики и биотехнологии животных [4].

Основными селекционными признаками молочной продуктивности крупного рогатого скота, отражающими количество получаемой продукции, являются удой, содержание молочного жира и молочного белка, а качество – жирномолочность и белковомолочность. Следовательно, разработка новых методов молекулярно-генетического анализа предоставила практическую возможность использования ДНК-маркеров в селекции скота на повышение молочной продуктивности [5]. Одним из подходов повышения эффективности селекционной работы является применение ДНК-маркеров, что в итоге даст возможность значительно повысить генетический потенциал животных, осуществить направленное разведение предпочтительных генотипов, ускорить процесс селекции крупного рогатого скота молочного направления продуктивности на повышение хозяйственно полезных качеств. В настоящее время особое внимание уделяется генам бета-лактоглобулина (LGB) и пролактина (PRL) [6].

Как отмечает Позовникова М. В. с соавторами [7], бета-лактоглобулин оказывает влияние на белковомолочность, пролактин – на стимуляцию развития молочных желез и секрецию молока.

Исходя из вышеизложенного, **целью работы** явилось изучение влияния генов бета-лактоглобулина и пролактина на показатели молочной продуктивности коров белорусской черно-пестрой породы.

Материал и методика исследований. Объектом наших исследований являлся генетический материал (ушной выщип) коров белорусской черно-пестрой породы, содержащихся в ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» Гродненского района Гродненской области (n=50).

ДНК-диагностику генотипов по гену бета-лактоглобулина и пролактина проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Ядерную ДНК выделяли перхлоратным методом. Основные растворы для выделения ДНК, амплификации и рестрикции готовили по Т. Маниатису, Э. Фрич, Дж. Сэмбруку [8].

Для амплификации участка гена LGB использовали праймеры:

LGB 1: 5' – TGT GCT GGA CAC CGA CTA CAA AAA G – 3';

LGB 2: 5' – GCT CCC GGT ATA TGA CCA CCC TCT – 3';

ПЦР-программа: «горячий старт» – 5 мин при 94°C, 35 циклов: денатурация – 60 с при 94°C, отжиг – 60 с при 60°C, синтез – 60 с при 72°C, достройка – 5 мин при 72°C. Амплификацию гена LGB проводили с использованием реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 2 мкл буфер, 2 мкл MgCl₂, 2 мкл dNTP's, 0,4 мкл праймера 1, 0,5 мкл праймера 2, 0,5 мкл Taq-полимеразы, 17,1 мкл – H₂O, 100-200 нг/мкл геномной ДНК. Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 1,5% агарозном геле (при напряжении 110 В). Длина фрагмента гена LGB – 247 п. н. Для рестрикции амплифицированного участка гена LGB применяли эндонуклеазу BsuRI (HaeIII). Реакцию проводили при температуре 37°C. Продукты рестрикции разделяли электрофоретически в 3% агарозном геле (при напряжении 130 В) в TBE буфере при УФ-свете с использованием бромистого этидия на системе гель-документирования Gel Doc RX+ (BIORAD). При расщеплении продуктов амплификации по гену LGB идентифицируются следующие генотипы: LGB^{AA} – фрагмент 148, 99 п.н.; LGB^{AB} – фрагменты 148, 99, 74 п.н.; LGB^{BB} – фрагменты 99, 74 п.н.

Для амплификации участка гена PRL использовали праймеры:

PRL 1: 5' – CGA GTC CTT ATG AGC TTG ATT CTT – 3';

PRL 2: 5' – GCC TTC CAG AAG TCG TTT GTT TTC – 3'.

ПЦР-программа: «горячий старт» – 5 мин при 95°C; 30 циклов: денатурация – 30 с при 95°C, отжиг – 30 с при 63°C, синтез – 30 с при 72°C, достройка – 10 мин при 72°C. Реакционная смесь для проведения амплификации по гену PRL готовилась в объеме 15 мкл и включала следующие компоненты: 1,5 мкл буфер, 1,5 мкл MgCl₂, 2 мкл dNTP's, 0,6 мкл каждого праймера, 0,4 мкл Taq-полимеразы, 7,9 мкл H₂O, 100-200 нг/мкл геномной ДНК. Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 1,5% агарозном геле

(при напряжении 110 В). Длина амплифицированного фрагмента гена PRL составила 156 п. н. Для рестрикции амплифицированного участка гена PRL использовали эндонуклеазу AvaII. Реакцию проводили при температуре 37°C. Продукты рестрикции генов разделяли электрофоретически в 3% агарозном геле (при напряжении 130 В) в TBE буфере при УФ-свете с использованием бромистого этидия на системе геледокументирования Gel Doc RX+ (BIORAD). При расщеплении продуктов амплификации рестриктазой AvaII при 37°C идентифицировались следующие генотипы: PRL^{AA} – 156 п.н.; PRL^{AB} – 156, 82, 74 п.н.; PRL^{BB} – 82, 74 п.н.

Частота встречаемости аллелей по генам бета-лактоглобулина и пролактина рассчитана по формуле 1 по Е. К. Меркурьевой [9]:

$$\begin{aligned} pA &= 2n AA + n AB / 2N \\ qB &= 2n BB + n AB / 2N \end{aligned} \quad (1)$$

где pA – частота аллеля А;

qB – аллель В;

n – количество гомозиготных или гетерозиготных особей;

N – общая численность обследованных животных;

2N – число аллелей данного двухаллельного локуса в обследованной популяции.

Для изучения молочной продуктивности подопытные коровы белорусской черно-пестрой породы были сгруппированы в зависимости от возраста: первотелки, коровы второго и третьего отелов. Молочную продуктивность подопытных коров определяли при помощи проведения контрольных доений. В обработку включали показатели по тем животным, у которых продолжительность лактации была не меньше 240 дней, а возраст при первом отеле составлял 26-30 мес. У животных с различными генотипами по изучаемым генам учитывали удои, содержание жира и белка, выход молочного жира и белка за 305 дней лактации.

Селекционно-генетические параметры основных хозяйственно полезных признаков определяли методами биологической статистики в описании Н. А. Плохинского [10], используя при этом компьютерную программу Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. В настоящее время в нашей стране практически отсутствует характеристика генофонда сельскохозяйственных животных по полиморфизму генов, связанных с показателями молочной продуктивности, однако такая характеристика необходима для рационального использования генофонда сельскохозяйственных животных и создания стад с более высоким качеством молока.

На рисунках 1-4 представлена частота встречаемости аллелей и генотипов по гену бета-лактоглобулина и пролактина в популяции коров белорусской черно-пестрой породы.

В результате исследований в исследуемой популяции коров установлен полиморфизм гена бета-лактоглобулина, представленный двумя аллелями – LGB^A и LGB^B (рисунок 1) и гена пролактина, представленный двумя аллелями – PRL^A и PRL^B (рисунок 2).

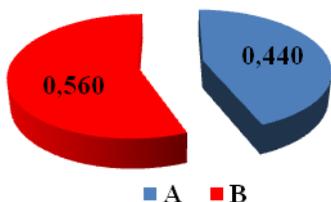


Рисунок 1 – Частота встречаемости аллелей гена бета-лактоглобулина

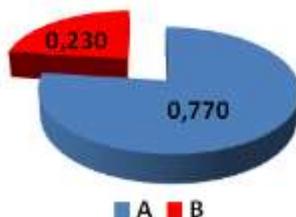


Рисунок 2 – Частота встречаемости аллелей гена пролактина

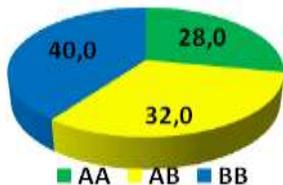


Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов по гену бета-лактоглобулина, %

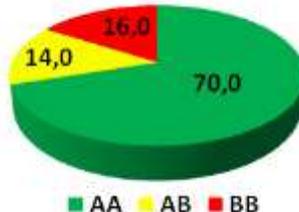


Рисунок 4 – Частота встречаемости генотипов по гену пролактина, %

Частота встречаемости аллелей LGB^A и LGB^B составила 0,440 и 0,560, а аллелей PRL^A и PRL^B – 0,770 и 0,230 соответственно. Идентифицировано по три генотипа каждого из исследуемых генов – LGB^{AA} , LGB^{AB} и LGB^{BB} (рисунок 3) и PRL^{AA} , PRL^{AB} и PRL^{BB} (рисунок 4). Среди опытных животных чаще встречались особи с генотипом LGB^{BB} (20 голов или 40%). При этом генотип LGB^{AB} и LGB^{AA} выявлен у 16 (32%) и 14 (28%) коров соответственно. В изучаемой популяции коров чаще встречался генотип PRL^{AA} (70% или 35 голов), чем генотипы PRL^{AB} (14% или 7 голов) и PRL^{BB} (16% или 8 голов) соответственно.

Следующим этапом наших исследований явилось изучение молочной продуктивности коров белорусской черно-пестрой породы с различными генотипами по генам бета-лактоглобулина и пролактина (таблицы 1-3).

Данные таблицы 1 свидетельствуют о том, что первотелки с генотипом LGB^{BB} достоверно превосходили сверстниц с генотипом LGB^{AA} по белковомолочности на 0,03% и количеству молочного белка на 5,1 кг ($P < 0,05$). Также животные с генотипом LGB^{BB} имели удой на 28,3-92,2 кг выше, жирномолочность – на 0,02% и количество молочного жира – на 1,0-4,6 кг больше, по сравнению с особями других генотипов. Животные с генотипом PRL^{BB} имели удой, количество молочного жира и молочного белка на 70,7-141,5 кг, 3,3-4,4 кг и 1,8-4,7 кг соответственно выше, чем животные с генотипом PRL^{AA} и PRL^{AB} ($P > 0,05$). При этом существенных различий по жирномолочности и белковомолочности у особой исследуемых групп не установлено.

Таблица 1 – Молочная продуктивность первотелок с различными генотипами по генам бета-лактоглобулина и пролактина

Показатели	Генотип					
	LGB ^{AA}	LGB ^{AB}	LGB ^{BB}	PRL ^{AA}	PRL ^{AB}	PRL ^{BB}
Удой за 305 дней лактации, кг	5908,0 ±49,4	5971,9 ±45,4	6000,2 ±47,9	5932,8 ±33,0	6003,6 ±57,6	6074,3 ±74,2
Жирномолочность, %	3,64 ±0,01	3,66 ±0,01	3,66 ±0,01	3,66 ±0,01	3,64 ±0,01	3,65 ±0,01
Количество молочного жира, кг	215,2 ±1,9	218,8 ±1,7	219,8 ±1,9	217,3 ±1,3	218,4 ±2,1	221,7 ±3,3
Белковомолочность, %	3,21 ±0,01	3,22 ±0,01	3,24 ±0,01*	3,22 ±0,01	3,23 ±0,01	3,23 ±0,01
Количество молочного белка, кг	189,5 ±1,6	192,4 ±1,5	194,6 ±1,9*	191,3 ±1,2	194,2 ±1,9	196,0 ±2,7

* – межгрупповые различия статистически достоверны при $P < 0,05$

Таблица 2 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по генам бета-лактоглобулина и пролактина по второй лактации

Показатели	Генотип					
	LGB ^{AA}	LGB ^{AB}	LGB ^{BB}	PRL ^{AA}	PRL ^{AB}	PRL ^{BB}
Удой за 305 дней лактации, кг	6111,4 ±46,8	6243,9 ±50,5	6285,2 ±55,6*	6188,2 ±38,4	6298,6 ±43,1	6310,8 ±91,4
Жирномолочность, %	3,64 ±0,01	3,67 ±0,01*	3,67 ±0,01*	3,66 ±0,01	3,65 ±0,01	3,66 ±0,01
Количество молочного жира, кг	222,7 ±1,7	229,0 ±2,0*	230,4 ±2,3**	226,7 ±1,6	230,0 ±1,8	230,8 ±3,9
Белковомолочность, %	3,22 ±0,01	3,22 ±0,01	3,26 ±0,01**	3,23 ±0,01	3,24 ±0,01	3,24 ±0,01
Количество молочного белка, кг	196,7 ±1,5	201,6 ±1,8*	204,7 ±2,1***	200,1 ±1,5	204,2 ±1,8	204,6 ±3,1

* – межгрупповые различия статистически достоверны при $P < 0,05$

** – межгрупповые различия статистически достоверны при $P < 0,01$

*** – межгрупповые различия статистически достоверны при $P < 0,001$

По второй лактации коровы с генотипом LGB^{BB} в ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» характеризовались достоверно более высоким удоем (на 173,8 кг), жирномолочностью (на 0,03%), количеством молочного жира (на 7,7 кг), белковомолочностью (на 0,04%) и количеством молочного белка (на 8,0 кг), чем животные с генотипом LGB^{AA} (P<0,05; P<0,01; P<0,001). В то же время у гетерозиготных по гену бета-лактоглобулина коров количество молочного жира и белка было выше, чем у животных с генотипом LGB^{AA} на 6,3 кг и 4,9 кг соответственно (P<0,05).

Результаты изучения молочной продуктивности коров с различными генотипами по гену пролактина свидетельствуют о том, что животные с генотипом PRL^{BB} имели удой на 12,2-122,6 кг, количество молочного жира на 0,8-4,1 кг и молочного белка на 0,4-4,5 кг больше, чем особи других групп (P > 0,05). Жирномолочность и белковомолочность в исследуемой популяции составила 3,65-3,66% и 3,23-3,24% соответственно.

Таблица 3 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по генам бета-лактоглобулина и пролактина по третьей лактации

Показатели	Генотип					
	LGB ^{AA}	LGB ^{AB}	LGB ^{BB}	PRL ^{AA}	PRL ^{AB}	PRL ^{BB}
Удой за 305 дней лактации, кг	6256,2 ±50,2	6407,2 ±64,0	6515,6 ±67,0***	6376,3 ±45,7	6463,0 ±80,8	6500,0 ±121,4
Жирномолочность, %	3,65 ±0,01	3,67 ±0,01	3,67 ±0,01	3,67 ±0,01	3,65 ±0,01	3,65 ±0,01
Количество молочного жира, кг	228,6 ±2,1	235,1 ±2,6	239,1 ±2,7***	234,1 ±1,9	235,9 ±3,4	237,4 ±5,1
Белковомолочность, %	3,22 ±0,01	3,24 ±0,01	3,26 ±0,01**	3,24 ±0,01	3,24 ±0,01	3,25 ±0,01
Количество молочного белка, кг	201,2 ±1,8	207,5 ±2,3*	212,5 ±2,4***	206,7 ±1,7	209,6 ±3,2	211,0 ±4,2

** – межгрупповые различия статистически достоверны при P < 0,01

*** – межгрупповые различия статистически достоверны при P < 0,001

Из данных таблицы 3 видно, что в популяции коров ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» по третьей лактации отмечено превосходство животных с генотипом LGB^{BB} над особями с генотипами LGB^{AA} и LGB^{AB} по основным показателям молочной продуктивности: удою – на 108,4-259,4 кг, количеству молочного жира – на 4,0-10,5 кг, белковомолочности – на 0,02-0,04% и количеству молочного белка – на 5,0-11,3 кг.

Достоверных различий между показателями молочной продуктивности коров с различными генотипами по гену пролактина по третьей лактации в ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» не установлено. Однако животные с генотипом PRL^{BB} превосходили своих сверстниц с генотипами PRL^{AA} и PRL^{AB} по удою на 37,0-123,7 кг, количеству мо-

лочного жира – на 1,5-3,3 кг и количеству молочного белка – на 1,4-4,3 кг ($P > 0,05$).

Анализ молочной продуктивности у изучаемого поголовья коров с различными генотипами по гену пролактина свидетельствует о более высоком удое, количестве молочного жира и белка у животных, имеющих в генотипе аллель PRL^B.

Закключение. 1. Результаты исследований свидетельствуют о возможности проведения селекции крупного рогатого скота на повышение частоты встречаемости аллеля LGB^B. Установлено, что животные с генотипом LGB^{BB} существенно превосходили коров с генотипом LGB^{AB} и LGB^{AA} по удою, белково-молочности и выходу молочного белка.

2. На сегодняшний день у ученых нет единого мнения о влиянии того или иного аллеля гена пролактина на показатели молочной продуктивности крупного рогатого скота. Частота встречаемости аллелей PRL^A и PRL^B колеблется от низкой до высокой в зависимости от породы. Тем важнее установить влияние гена пролактина на хозяйственно полезные признаки пород крупного рогатого скота, разводимых в Республике Беларусь, для совершенствования процесса селекции при работе с ними. А ген пролактина, как ДНК-маркер молочной продуктивности, может служить дополнительным критерием при отборе животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Полиморфные системы лактопротеинов крупного рогатого скота как генные маркеры / Г. Е. Маринчук [и др.] ; под общ. ред. В. И. Барабаша. – Днепропетровск, 2007. – 260 с.
2. Макаренко, М. Пути повышения качества молока в приморском крае / М. Макаренко // Молочное и мясное скотоводство. – 2007. – № 8. – С. 13-14.
3. Вишневец, А. В. Полиморфизм гена PRL (пролактин) у быков-производителей и его использование в селекционно-племенной работе / А. В. Вишневец, П. П. Красочко, А. П. Никитина // Ученые записки : сборник научных трудов / УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2014. – Т. 50. – Вып. 2. – Ч. 1. – С. 261-265.
4. Эрнст, Л. К. Биологические проблемы животноводства в XXI веке / Л. К. Эрнст, Н. А. Зиновьева. – М.: РАСХН, 2008. – С. 260-273.
5. Использование ДНК-тестирования по гену CSN3 в селекции молочного крупного рогатого скота: монография / Л.А. Танана [и др.]. – Гродно: ГТАУ, 2014. – 193 с.
6. Полиморфизм генов молочной продуктивности в популяции крупного рогатого скота Республики Беларусь / О. А. Елишко [и др.] // Сб. науч. тр. / СКНИИЖ – Краснодар, 2014. – Т. 1. – № 3: Научные основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. – С. 41-46.
7. Генетическая структура айрширского скота по однонуклеотидным ДНК-маркерам и влияние их генотипов на молочную продуктивность / М. В. Позовникова [и др.] / Генетика и разведение животных. – 2015. – № 2. – С. 22-27.
8. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук -М.: «Мир». – 1984. – 480 с.
9. Меркурьева, Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е. К. Меркурьева. – М.: Колос, 1977. – 239 с.
10. Плохинский, Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М.: АН СССР, 1969. – 360 с.