

УДК 636.22/.28.082.2(476.6)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНА ГОРМОНА РОСТА В СЕЛЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

О. А. Епишко, 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 гормона роста, молочная продуктивность, крупный рогатый скот.*

***Аннотация.** В популяции коров белорусской черно-пестрой породы установлен полиморфизм гена гормона роста (GH). Выявлены генотипы GH^{LL} , GH^{LV} и GH^{VV} . Определена частота встречаемости аллелей и генотипов по гену гормона роста. Изучена молочная продуктивность коров с различными генотипами по гену гормона роста. Установлено положительное влияние аллеля GH^L на показатели молочной продуктивности у коров.*

USING OF GROWTH HORMONE GENE IN CATTLE SELECTION

O. A. Epishko, N. N. Peshko

EU «Grodno State Agrarian University»
(Belarus, Grodno, 230008, 28 Tereshkova st.; e-mail: valik-11@mail.ru)

***Key words:** growth hormone gene, milk production, cattle.*

***Summary.** In the population of cows of the Belarusian black-motley breed, the polymorphism of the growth hormone (GH) gene has been established. The genotypes GH^{LL} , GH^{LV} and GH^{VV} were identified. The frequency of occurrence of alleles and genotypes by the growth hormone gene was determined. The milk productivity of cows with different genotypes for the growth hormone gene was studied. The positive influence of the GH^L allele on milk productivity in cows was established.*

(Поступила в редакцию 29.04.2017 г.)

Введение. 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). Поэтому в настоящее время племенная работа наряду с традиционными методами должна включать достижения в области генетики и биотехнологии животных.

Гормон роста – важнейший регулятор соматического роста животных, обладающий лактогенным и жиромобилизующим действием [1]. Ген гормона роста (GH), расположенный на 19-й хромосоме, оказывает большое влияние на регуляцию синтеза белков, деление клеток, рост организма, процессы мобилизации жира и характеризуется лактогенным действием [2]. Установлен полиморфизм в пятом экзоне гена, связанный с трансверсией С-С, что обуславливает аминокислотную замену лейцина на валин в белковом продукте гена, что обеспечивает повышение темпов прироста живой массы сельскохозяйственных животных и молокообразования у лактирующих коров [3].

Рядом ученых установлена связь полиморфных вариантов гена GH с молочной продуктивностью (удой, содержание жира и белка в молоке). Увеличение концентрации аллеля GH^L среди популяций указывает на его селекционное преимущество перед GH^V вариантом путем обеспечения повышенной лактогенной функции [4]. Выявлена сильная положительная зависимость удою от генотипа GH^{LL} по сравнению с генотипом GH^{LV} у коров голштино-фризской и черно-пестрой пород [5], а у животных польской черно-пестрой и голштинской пород установлена положительная корреляция удою, содержания молочного жира и молочного белка с аллелем GH^V [6]. Однако в исследованиях А. А. Некрасова с соавторами [7] указано, что более высокий удой получен от первотелок голштинской породы с генотипом GH^{VV}, а более низкий – от сверстниц с генотипом GH^{LL}.

Данные О. А. Епишко с соавторами [8] свидетельствуют о том, что в популяции коров белорусской черно-пестрой породы в СПК «Обухово» частота встречаемости генотипа GH^{LL} и GH^{LV} составила 73,33% и 26,67% соответственно, а частота встречаемости аллеля GH^L и GH^V – 0,87 и 0,13. Как показывают проведенные исследования, коровы с генотипом GH^{LL} имели более высокий показатель удою (на 870 кг), жирномолочности (на 0,06%) и белкомолочности (на 0,16%) по сравнению с животными с генотипом GH^{LV} [8].

Михайлова М. Е., Белая Е. В. и Волчок Н. М. установили превосходство коров черно-пестрой породы Минской области с генотипом GH^{LV} над животными гомозиготными по аллелю GH^L и аллелю GH^V на 108-148 кг. Однако коровы с генотипом GH^{LV} уступали особям с генотипом GH^{VV} по выходу молочного жира на 16,0 кг [9].

Таким образом, многочисленные научные исследования и практический опыт показали влияние гормона роста на количественные и качественные показатели молочной продуктивности крупного рогатого скота. Генотипы гена гормона роста можно применять как генетические маркеры удою, жирномолочности и белкомолочности и селек-

ционным путем закреплять наиболее ценные из них в следующих поколениях.

Цель работы: изучить влияние гена гормона роста 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 КСУП «Экспериментальная база «Октябрь» Вороновского района (n=102) и ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» Гродненского района Гродненской области (n=50).

ДНК-диагностику генотипов по гену гормона роста 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 [10]. Для амплификации участка гена GH использовали праймеры:

GH 1: 5' – CCG TGT CTA TGA GAA GC – 3'

GH 2: 5' – GTT CTT GAG CAG CGC GT – 3'.

ПЦР-программа: «Горячий старт» – 4 мин при 94°C, 35 циклов: денатурация – 60 с при 94°C, отжиг – 60 с при 59°C, синтез – 60 с при 72°C, достройка – 4 мин при 72°C. Реакционная смесь для проведения амплификации по гену GH готовилась в объеме 25 мкл и включала следующие компоненты: 1,5 мкл буфер, 1,5 мкл MgCl₂, 2 мкл dNTP's, 0,4 мкл каждого праймера, 0,5 мкл Taq-полимеразы, 18,2 мкл H₂O, 100-200 нг/мкл геномной ДНК. Длина амплифицированного фрагмента – 223 п.о. При расщеплении продуктов амплификации рестриктазой Alu I при 37°C были идентифицированы следующие генотипы: GH^{VV} – фрагмент 208 п.о.; GH^{LL} – фрагменты 172, 35 п.о. GH^{LV} – фрагменты 208, 172 и 35 п.о.

Частота встречаемости аллелей по гену гормона роста рассчитана по формуле 1 по Е. К. Меркурьевой [11]:

$$pL = 2n LL + n LV / 2N$$

$$qV = 2n VV + n LV / 2N \quad (1)$$

где pL – частота аллеля L;

qV – аллель V;

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 месяцев. 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 [12], используя при этом компьютерную программу Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. Эффективность селекционно-племенной работы оказывает большое влияние на продуктивность крупного рогатого скота и производство высококачественной животноводческой продукции. Рост генетического потенциала молочной продуктивности позволит повысить наряду с удоем и качественные показатели молока. Вместе с тем многочисленные научные исследования и практический опыт указывают на влияние гормона роста на количественные и качественные показатели молочной продуктивности крупного рогатого скота [8, 13].

В результате исследований установлено, что соотношение частот аллеля GH^L и GH^V в популяции коров КСУП «Экспериментальная база «Октябрь» (рисунок 1) находилось на уровне 0,951 и 0,049, а в группе животных ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» (рисунок 2) – 0,810 и 0,190 соответственно.

Анализ распределения генотипов по гену гормона роста в популяции коров КСУП «Экспериментальная база «Октябрь» (рисунок 3) позволил установить преобладание животных с генотипом GH^{LL} (90,2% или 92 головы) над животными с генотипом GH^{LV} (9,8% или 10 голов). Животных с генотипом GH^{VV} в исследуемой группе животных не обнаружено.

Среди коров белорусской черно-пестрой породы в ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» (рисунок 4) чаще встречались животные с генотипом GH^{LL} – 33 головы (66%), чем с генотипом GH^{LV} – 15 голов (30%) и с генотипом GH^{VV} – 2 головы (4%).

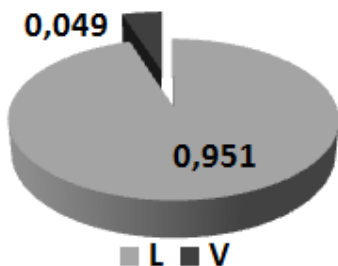


Рисунок 1 – Частота встречаемости аллелей гена гормона роста в популяции коров белорусской черно-пестрой породы (КСУП «Экспериментальная база «Октябрь»)

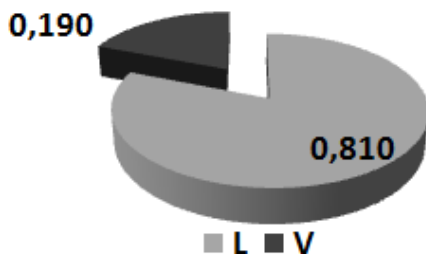


Рисунок 2 – Частота встречаемости аллелей гена гормона роста в популяции коров белорусской черно-пестрой породы (ОАО «Агрокомбинат «Скидельский»)

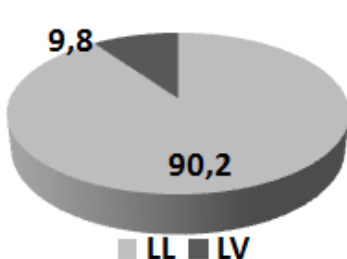


Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов по гену гормона роста в популяции коров белорусской черно-пестрой породы (КСУП «Экспериментальная база «Октябрь»), %

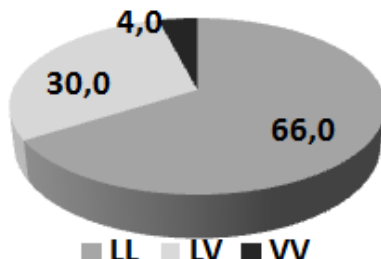


Рисунок 4 – Частота встречаемости генотипов по гену гормона роста в популяции коров белорусской черно-пестрой породы (ОАО «Агрокомбинат «Скидельский»), %

Молочная продуктивность исследуемых животных с различными генотипами по гену гормона роста представлена в таблицах 1-3.

Анализ данных таблицы 1 свидетельствует о том, что в КСУП «Экспериментальная база «Октябрь»» первотелки с генотипом GH^{LV} уступали сверстницам с генотипом GH^{LL} по удою на 55,1 кг, жирномолочности – на 0,04%, количеству молочного жира – на 3,7 кг, белкомолочности – на 0,09% ($P < 0,05$) и количеству молочного белка – на 3,5 кг. В ОАО «Агрокомбинат «Скидельский»» установлено превосходство животных с генотипом GH^{LL} и GH^{LV} над первотелками с генотипом GH^{VV} по удою на 410,3-436,0 кг, жирномолочности – на 0,05-

0,06%, количеству молочного жира – на 17,9-19,4 кг, белковомолочности – на 0,03% и количеству молочного белка – на 14,9-15,9 кг.

Таблица 1 – Молочная продуктивность первотелок с различными генотипами по гену гормона роста

Показатели	Генотип				
	КСУП «Экспериментальная база «Октябрь»		ОАО «Агрокомбинат «Скидельский»		
	GH ^{LL}	GH ^{LV}	GH ^{LL}	GH ^{LV}	GH ^{VV}
Удой за 305 дней лактации, кг	4634,1 ±66,5	4579,0 ±137,8	5990,5 ±30,9***	5964,8 ±49,3***	5554,5 ±47,5
Жирномолочность, %	3,74 ±0,01	3,70 ±0,03	3,66 ±0,01***	3,65 ±0,01***	3,60 ±0
Количество молочного жира, кг	173,4 ±2,6	169,7 ±5,4	219,4 ±1,1***	217,9 ±2,1***	200,0 ±1,7
Белковомолочность, %	3,22 ±0,01*	3,13 ±0,03	3,23 ±0,01**	3,23 ±0,01**	3,20 ±0,005
Количество молочного белка, кг	147,0 ±2,2	143,5 ±4,5	193,4 ±1,1***	192,4 ±1,9***	177,5 ±1,8

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

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

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

Таблица 2 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по гену гормона роста по второй лактации

Показатели	Генотип				
	КСУП «Экспериментальная база «Октябрь»		ОАО «Агрокомбинат «Скидельский»		
	GH ^{LL}	GH ^{LV}	GH ^{LL}	GH ^{LV}	GH ^{VV}
Удой за 305 дней лактации, кг	5180,2 ±83,4	5096,3 ±331,5	6264,9 ±34,1***	6196,7 ±56,3***	5737,0 ±68,0
Жирномолочность, %	3,76 ±0,01	3,78 ±0,04	3,66 ±0,01***	3,66 ±0,01***	3,62 ±0,005
Количество молочного жира, кг	195,2 ±3,3	192,9 ±13,0	229,6 ±1,4***	226,6 ±2,3***	207,4 ±2,7
Белковомолочность, %	3,22 ±0,01	3,22 ±0,02	3,24 ±0,01*	3,23 ±0,01	3,21 ±0,015
Количество молочного белка, кг	167,0 ±2,8	163,6 ±10,2	203,1 ±1,3***	200,0 ±2,0***	183,9 ±3,0

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

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

Из данных таблицы 2 видно, что в КСУП «Экспериментальная база «Октябрь» коровы с генотипом GH^{LL} имели удой, количество молочного жира и белка на 83,9 кг, 2,3 кг и 3,4 кг соответственно выше, а жирномолочность – на 0,02% ниже, чем животные с генотипом GH^{LV} ($P > 0,05$). В ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» как и по первой, так и по второй лактации коровы с генотипом GH^{LL} и GH^{LV} высокодосто-

верно превосходили сверстниц с генотипом GH^{VV} по удою (на 459,7-727,9) кг, жирномолочности (на 0,04%), количеству молочного жира (на 19,2-22,2 кг), количеству молочного белка (на 16,1-19,2 кг) ($P < 0,001$), и белковомолочности (на 0,02-0,03%) ($P < 0,05$).

Таблица 3 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по гену гормона роста по третьей лактации

Показатели	Генотип				
	КСУП «Экспериментальная база «Октябрь»		ОАО «Агрокомбинат «Скидельский»		
	GH^{LL}	GH^{LV}	GH^{LL}	GH^{LV}	GH^{VV}
Удой за 305 дней лактации, кг	5877,2 ±88,3**	5321,8 ±189,4	6461,3 ±42,0***	6375,9 ±66,4***	5775,5 ±35,5
Жирномолочность, %	3,78 ±0,01	3,76 ±0,03	3,67 ±0,01***	3,67 ±0,01***	3,60 ±0
Количество молочного жира, кг	222,4 ±3,6**	200,2 ±7,2	236,9 ±1,7***	233,9 ±2,7***	207,9 ±1,3
Белковомолочность, %	3,24 ±0,01	3,21 ±0,03	3,25 ±0,01***	3,24 ±0,01**	3,21 ±0,005
Количество молочного белка, кг	190,7 ±3,0**	170,9 ±5,9	209,7 ±1,6***	206,5 ±2,6***	185,1 ±1,0

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

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

В КСУП «Экспериментальная база «Октябрь» по третьей лактации коровы с генотипом GH^{LL} имели удои на 555,4 кг выше, количество молочного жира и белка на 22,2 кг и 19,8 кг больше, по сравнению с гетерозиготными по гену гормона роста животными ($P < 0,01$). По уровню белковомолочности и жирномолочности у коров исследуемых групп различия были незначительны и составили 0,02% и 0,03% соответственно ($P > 0,05$). В ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» наличие у коров аллеля GH^L также обеспечило увеличение показателей молочной продуктивности, в отличие от животных, не имеющих данного аллеля. Так, особи с генотипами GH^{LL} и GH^{LV} характеризовались более высоким удоем, жирномолочностью, количеством молочного жира, белковомолочностью и количеством молочного белка (на 600,4-685,8 кг, 0,07%, 26,0-29,0 кг, 0,03-0,04% и 21,4-24,6 кг соответственно), по сравнению с коровами с генотипом GH^{VV} ($P < 0,01$; $P < 0,001$).

Заключение. Таким образом, установлено положительное влияние аллеля GH^L на показатели молочной продуктивности крупного рогатого скота. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование ДНК-диагностики по гену гормона роста в селекционном процессе и отбор животных-носителей желательного аллеля GH^L позволят повысить удои, а также количество молочного жира и белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Полиморфизм генов CSN3, BPRL и BGN у коров костромской породы в связи с показателями молочной продуктивности / А. В. Перчун [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 11. – Ч. 2. – С. 304-308.
2. Ardak, A. D. Effects of genetic variants in milk protein on yield and composition of milk from Holstein-Friesian and Simmental cows / A. D. Ardak // South African J. Animal Science. – 2005. – Vol. 35 (1). – P. 41-47.
3. Россоха, В. И. Полиморфизм генов гормона роста и каппа-казеина крупного рогатого скота породы шароле / В. И. Россоха, Н. Н. Шкавро, О. В. Дробязко // Сб. науч. тр. / РУП «НПЦ НАН Б по животноводству». – Жодино, 2014. – Т. 49.: Зоотехническая наука Беларуси. – С. 146-153.
4. 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.
5. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production / M. C. Lucy [et al.] // Domest. Anim. Endocrinol. – 1993. – Vol. 10. – P. 325-333.
6. Sabour, M. P. Association of genetic variants of bovine growth hormone with milk production traits in Holstein cattle / M. P. Sabour, C. Y. Lin, C. Smith // J. Anim. Breed. Genet. – 1997. – Vol. 114. – P. 435-442.
7. Ассоциация молочной продуктивности коров-перволеток черно-пестрой голштинской породы с генами bGN, bPRL и κ-CN / А. А. Некрасов [и др.] / Сб. ст. конференции, посвященной 85-летию со дня рождения Л. К. Эрнста, Киров, 2015. – С. 246-251.
8. Полиморфизм генов молочной продуктивности в популяции крупного рогатого скота Республики Беларусь / О. А. Епишко [и др.] // Сб. науч. тр. / СКНИИЖ – Краснодар, 2014. – Т. 1. – № 3: Научные основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. – С. 41-46.
9. Михайлова, М.Е. Влияние полиморфных вариантов генов соматотропинового каскада (bPit-1, bPRL, bGN, bGHR, bIGF-1) на признаки молочной продуктивности крупного рогатого скота черно-пестрой породы белорусского разведения / М. Е. Михайлова, Е. В. Белая, Н. М. Волчок // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2011. – № 160. – С. 273-280.
10. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук -М.: «Мир». – 1984. – 480 с.
11. Меркурьева, Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е. К. Меркурьева. – М.: Колос, 1977. – 239 с.
12. Плохинский, Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М.: АН СССР, 1969. – 360 с.
13. Ильясов, А. Г. Полиморфизм гена гормона роста крупного рогатого скота в связи с продуктивностью в Республике Башкортостан: автореф. дис. ... канд. сельскохоз. наук: 06.02.01 / А. Г. Ильясов. – Уфа, 2008. – 20 с.