

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СОМАТОТРОПИНОВОГО КАСКАДА, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРИЗНАКАМИ МЯСНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ ОТНОСИТЕЛЬНО ОБЩЕЙ ВЫБОРКИ У КОРОВ АУЛИЕКОЛЬСКОЙ ПОРОДЫ

PHENOTYPIC EFFECTS
OF GENE POLYMORPHISMS
SOMATOTROPONOGO CASCADE
ASSOCIATED WITH CHARACTERISTICS
OF MEAT PRODUCTIVITY RELATIVE TO
THE TOTAL SAMPLE IN COWS
OF AULIEKOLSKOY BREED

I. Beyshova
E. Belaya
B. Traisov
V. Ulyanov

Summary. The selection of animals with the preferred genotype associated with characteristics of meat productivity in cattle, not in all cases is of such a significant and quick results, as one would expect. Many authors draw attention to the need to improve ways to assess the phenotypic effects of genetic markers [1–6]. In this regard, we applied the method of assessing a phenotypic effect of the genotypes for SNPs that are potential genetic markers of productivity, including meat productivity of cattle [7].

Keywords: auliekol breed and Kazakh white-head breed, somatotropinomas cascade, phenotypic effect, cattle.

Бейшова Индира Салтановна

К.с.-х.н., доцент, Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова, г. Костанай, Республика Казахстан
indira_bei@mail.ru

Белая Елена Валентиновна

К.б.н., н.с., Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь
kolyuchka005@rambler.ru

Траисов Балуаш Бакишевич

Д.с.-х.н., профессор, академик Каз.АСХН, академик КазНАЕН, директор департамента животноводства НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет им. Жангир хана
btraisov@mail.ru

Ульянов Вадим Александрович

Н.с., преподаватель, Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова, г. Костанай, Республика Казахстан
vadimkst@mail.ru

Аннотация. Отбор животных с предпочтительными генотипами, ассоциированными с признаками мясной продуктивности у крупного рогатого скота, не во всех случаях приносит такой значительный и скорый результат, как можно было бы ожидать. Многие авторы обращают внимание на необходимость совершенствования способов оценки фенотипических эффектов генетических маркеров [1–6]. В связи с этим, нами применен способ дополнительной оценки фенотипического эффекта генотипов для полиморфизмов, которые являются потенциальными генетическими маркерами продуктивности, в том числе и мясной продуктивности крупного рогатого скота [7].

Ключевые слова: аулиекольская порода, казахская белоголовая порода, соматотропиновый каскад, фенотипический эффект, крупный рогатый скот.

Развитие животноводства на современном этапе невозможно без внедрения новых биотехнологических методов оценки признаков продуктивности сельскохозяйственных животных, базирующихся непосредственно на анализе наследственной информации. Большая часть хозяйственно ценных селекционных признаков имеет полигенный характер, т.е. контролируется множеством генов. Поэтому в настоящее время в странах с развитой экономикой бурное развитие получило новое направление селекции, опирающееся на информацию о генотипах живых организмов — маркер-зависимая селекция (Marker Assisted Selection — MAS [8]. Маркеры,

тесно сцепленные с целевым геном, являются надежным инструментом для предсказания фенотипа. Это позволяет производить оценку генетического потенциала животного сразу после рождения и сократить временные и финансовые затраты в селекционном процессе.

Известно, что гормон роста (GH – соматотропин) является важнейшим регулятором роста у млекопитающих. Синтез соматотропина и реализация его физиологических эффектов представляет собой цепь последовательных взаимодействий белок — рецептор (соматотропиновый каскад). Ключевыми звеньями этой цепи являются

Таблица 1. Условия ПЦР и последовательности праймеров

Ген/рестриктаза	Условия амплификации	Последовательности праймеров
bPit-1-Hinfl	94 °C — 1 мин; (95 °C — 45 сек; 56 °C — 60 сек; 72 °C — 60 сек) x 35 циклов; 72 °C — 1 мин	Hinfl-F: 5'-aacccatcatctcccttctt-3' Hinfl-R: 5'-atgtacaatgtctctctgag-3'
bGH-AluI	95 °C — 5 мин; (95 °C — 30 сек; 64 °C — 30 сек; 72 °C — 60 сек) x 35 циклов; 72 °C — 1 мин	AluI -F: 5'-ccgtgtctatgagaagc-3' AluI-R: 5'-gttcttgagcagcgcgt-3'
bGHR-SspI	95 °C — 5 мин; (95 °C — 30 сек; 60 °C — 30 сек; 72 °C — 30 сек) x 35 циклов; 72 °C — 1 мин	SspI-F: 5'-atatgtagcagtgacaatat-3' SspI-R: 5'-acgtttcactgggtgatga-3'

гипофизарный фактор транскрипции-1 (bPit-1), запускающий экспрессию генов соматотропина и пролактина, пролактин и гормон роста, регулирующие лактацию, рецептор гормона роста (bGHR), передающий гуморальный сигнал соматотропина к клеткам-мишеням [9].

Гены соматотропинового каскада полиморфны. У крупного рогатого скота разных пород выявлен широкий набор их аллелей, представляющих интерес для MAS-селекции в качестве генетических маркеров хозяйственно полезных признаков. Однако, в ряде случаев опубликованные данные об ассоциации аллелей генов соматотропинового каскада (bPit-1, bGH, bGHR и bIGF-1) с признаками продуктивности, полученные на разных породах, трудно сопоставимы и противоречат друг другу, а для значительной части выявленных аллелей такие исследования не проводились.

Несмотря на большой объем информации, поступающей из зарубежных источников, о преимуществах использования генетических маркеров в селекции, в отечественной научной литературе имеется лишь незначительная информация о подобных результатах. Информация о генетических маркерах мясной продуктивности у отечественных пород чрезвычайно важна, так как именно местные породы хорошо адаптированы к условиям климата, кормовой базе и обладают устойчивым иммунитетом к заболеваниям, распространенным на территории Казахстана.

Материалы и методы исследований

Объектом исследования послужили выборки коров Аулиекольской породы. Предмет исследования — полиморфные гены соматотропинового каскада (bPit-1, bGH, bGHR).

Материал исследования — образцы ДНК, выделенной из крови коров Аулиекольской породы. Геномную ДНК выделяли из крови КРС, используя набор «Pure Link Genomic DNA Kits», согласно инструкции изготовителя.

Определение генотипов животных осуществлялось методом ПЦР-ПДРФ. Последовательности праймеров и условия ПЦР для анализа каждого полиморфизма приведены в таблице 1.

Полимеразную цепную реакцию генов проводили в амплификаторе ProFlex PCR System, «Applied Biosystems». Детекцию ПЦР-продуктов проводили в 2%-ом агарозном геле. По 10 мкл каждого амплификата вносили в лунки геля. В каждом ряду присутствовал ДНК-маркер молекулярных масс. Подключали камеру к источнику тока, соблюдая полярность (молекулы ДНК движутся к положительному электроду). Проводили электрофорез в течение 30 мин. при напряжении электрического поля — 10 В / см, 150V. Документацию продуктов ПЦР амплификации проводили с помощью компьютерной системы Quantum 1100, Vilber Lourmat (США) под коротковолновым ультрафиолетовым излучением на трансиллюминаторе.

Анализ полиморфизма нуклеотидной последовательности гена bPit-1 в экзоне 6 проводился с помощью рестриктазы HinfI. Полиморфизм обусловлен А→G нуклеотидной заменой, не приводящей к изменению аминокислотной последовательности. Сайтом узнавания для рестриктазы HinfI является последовательность G↓ANTC. Разрезаемый в ходе ферментации фрагмент содержит нуклеотид А соответствующий аллелю bPit-1-HinfI В. В случае присутствия G нуклеотида сайт рестрикции исчезает, такой аллель обозначен как bPit-1-HinfI А.

Анализ полиморфизма нуклеотидной последовательности гена bGH в экзоне 5 проводился с помощью рестриктазы AluI. Полиморфизм обусловлен транзицией С→G. Сайтом узнавания для рестриктазы AluI является последовательность AG↓CT. Распознаваемый ферментом аллель содержит нуклеотид С и обозначен как bGH-AluI L. В случае присутствия G нуклеотида сайт рестрикции исчезает, такой аллель обозначен как bGH-AluI V.

Анализ полиморфизма нуклеотидной последовательности гена bGHR в экзоне 8 проводился с помощью рестриктазы SspI. Рестриктаза SspI распознает Т→А транзицию в экзоне 8. Сайтом узнавания для рестриктазы является последовательность AAT↓ATT. Разрезаемый ферментом амплификат содержит нуклеотид Т, соответствующий аллелю bGHR-SspI F. В случае присутствия А-нуклеотида сайт рестрикции исчезает, такой аллель обозначен как bGHR-SspI Y.

Таблица 2. Непараметрические характеристики живой массы в группах коров аулиекольской породы с разными генотипами по полиморфизму *bPit-1-HinFI*

Признак/возраст	генотип	Me	Доверительный интервал для медианы		Интерквартильный размах	
			ДИ1	ДИ2	25%	75%
Живая масса; возраст 18 мес.	<i>bPit-1-HinFI^{AA}</i>	386	372	411	370	419
	<i>bPit-1-HinFI^{AB}</i>	374	368	378	329	393
	<i>bPit-1-HinFI^{BB}</i>	368	354	374	329	387
	Общая выборка	373	368	377	329	395
Живая масса; возраст 24 мес.	<i>bPit-1-HinFI^{AA}</i>	447	410	482	403	483
	<i>bPit-1-HinFI^{AB}</i>	383	376	411	365	428
	<i>bPit-1-HinFI^{BB}</i>	411	403	423	382	435,5
	Общая выборка	405	395	423	377	437

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием стандартного пакета программ «STATISTICA 6.0». Сравнение выборок по распределению частот аллелей исследуемых генов, а также оценку соответствия фактического распределения генотипов теоретически ожидаемому по закону Харди-Вайнберга проводили с помощью критерия χ^2 . Различия во всех случаях рассматривались как статистически достоверные при уровне значимости $P < 0,05$ [10].

Результаты исследований

Нами было установлено достоверное различие групп коров аулиекольской породы с генотипами *bPit-1-HinFI^{AA}*, *bPit-1-HinFI^{AB}* и *bPit-1-HinFI^{BB}* по полиморфизму гена гипофизарного фактора роста-1 по признаку живая масса в возрасте 18 и 24 месяца. В частности, установлено, что большим весом характеризовались коровы с генотипом *bPit-1-HinFI^{AA}* по сравнению с коровами с генотипами *bPit-1-HinFI^{AB}* и *bPit-1-HinFI^{BB}*. В таблице 2 приведены численные значения живой массы аулиекольских коров в возрастах 18 и 24 месяца.

По данным, приведенным в таблице построены графики, характеризующая положение групп относительно общей выборки, рисунок 1.

Как видно из рисунка 1 в возрастах 18 и 24 месяца различие между животными с разными генотипами по полиморфизму *bPit-1-HinFI* наблюдается за счет генотипа *bPit-1-HinFI^{AA}* по отношению к генотипам *bPit-1-HinFI^{AB}* и *bPit-1-HinFI^{BB}*. Именно этот генотип по живому весу достоверно отличается от выборки и превосходит ее. Срединное значение продуктивности этой группы животных в возрасте 18 месяцев находится в пределах 386–411 кг, в то время как этот показатель для общей выборки составляет 368–377 кг.

В возрасте 24 месяца границы доверительных интервалов общей выборки и группы коров с генотипом *bPit-1-HinFI^{AA}* перекрываются и составляют 395–423 и 410–482 кг

соответственно, хотя отличие генотипа *bPit-1-HinFI^{AA}* от генотипов *bPit-1-HinFI^{AB}* и *bPit-1-HinFI^{BB}* по данному признаку значимо. Это не позволяет считать наблюдаемое различие статистически значимым. Тем не менее, тенденция к повышению живой массы относительно общей выборки для коров с генотипом четко *bPit-1-HinFI^{AA}* сохраняется.

Таким образом, генотип *bPit-1-HinFI^{AA}* у аулиекольских коров можно считать генетическим маркером повышенной живой массы коров в возрасте 18 месяцев.

Значительное количество ассоциаций с признаками мясной продуктивности продемонстрировал в ходе исследования полиморфизм *bIGF-1-SnaBI*.

В частности, достоверная разница в продуктивности коров с генотипами *bIGF-1-SnaBI^{AA}*, *bIGF-1-SnaBI^{AB}* и *bIGF-1-SnaBI^{BB}* обнаружена по признакам живого веса.

Так, по признаку живого веса достоверная разница между генотипами *bIGF-1-SnaBI^{AA}*, *bIGF-1-SnaBI^{AB}* и *bIGF-1-SnaBI^{BB}* обнаружена у телят в возрасте 6, 12, 18 и 24 месяца. Численные характеристики групп приведены в таблице 3.

Из данных таблицы следует, что наибольшим живым весом во всех возрастах характеризуются телята с генотипами *bIGF-1-SnaBI^{AA}* и *bIGF-1-SnaBI^{AB}*.

Результаты оценки характера ассоциации генотипов относительно общей выборки приведены в диаграммах на рисунке 4.

Из диаграмм, приведенных на рисунке 4 следует, что по отношению к общей выборке отличие по живому весу наблюдается не для генотипа *bIGF-1-SnaBI^{AA}* предпочтительного по данному признаку, а для генотипа *bIGF-1-SnaBI^{BB}*, который характеризуется сниженной живой массой телят на всех возрастах и является альтернативным, по отношению к генотипам *bIGF-1-SnaBI^{AA}*

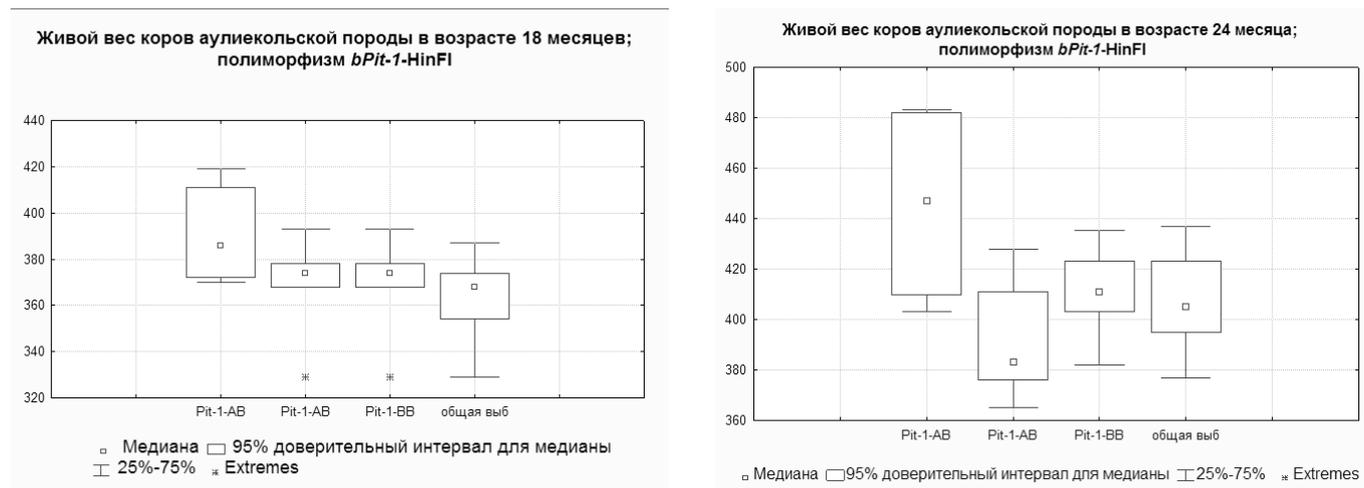


Рис. 1. Живой вес коров аулиекольской породы в возрасте 18 и 24 месяца; полиморфизм *bPit-1-HinFI*

Таблица 3. Непараметрические характеристики живой массы в возрасте 6, 9, 12, 18, 24 месяца в группах коров аулиекольской породы с разными генотипами по полиморфизму *bIGF-1-SnaBI*

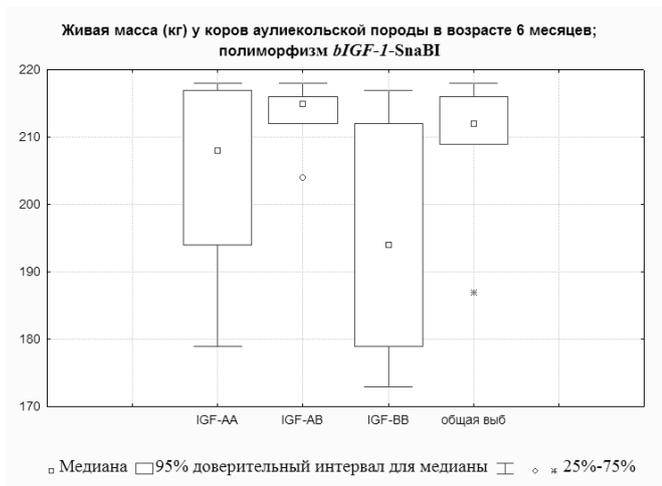
Признак/возраст	Генотип	Me	Доверительный интервал для медианы		Интерквартильный размах	
			ДИ1	ДИ2	25%	75%
Живая масса; возраст 6 мес.	<i>bIGF-1-SnaBI^{AA}</i>	208	194	217	179	218
	<i>bIGF-1-SnaBI^{AB}</i>	215	212	216	204	218
	<i>bIGF-1-SnaBI^{BB}</i>	194	179	212	173	217
	Общая выборка	212	209	216	187	218
Живая масса; возраст 9 мес	<i>bIGF-1-SnaBI^{AA}</i>	271	254	274	241	283
	<i>bIGF-1-SnaBI^{AB}</i>	273	272	274	265	285
	<i>bIGF-1-SnaBI^{BB}</i>	254	238	272	229	274
	Общая выборка	273	272	274	249	283
Живая масса; возраст 12 мес	<i>bIGF-1-SnaBI^{AA}</i>	325	319	348	289	362
	<i>bIGF-1-SnaBI^{AB}</i>	329	326	341	321	362
	<i>bIGF-1-SnaBI^{BB}</i>	306	289	324	279	332
	Общая выборка	327	325	331	309	362
Живая масса; возраст 18 мес	<i>bIGF-1-SnaBI^{AA}</i>	372	358	386	327	402
	<i>bIGF-1-SnaBI^{AB}</i>	377	372	382	362	395
	<i>bIGF-1-SnaBI^{BB}</i>	344	326	371	321	380
	Общая выборка	373	368	377	329	395
Живая масса; возраст 24 мес.	<i>bIGF-1-SnaBI^{AA}</i>	414	397	447	376	462
	<i>bIGF-1-SnaBI^{AB}</i>	423	414	429	397	454
	<i>bIGF-1-SnaBI^{BB}</i>	383	376	411	365	428
	Общая выборка	414	405	423	381	453

и *bIGF-1-SnaBI^{AB}*. В таком случае полиморфизм *SnaBI* гена инсулиноподобного фактора роста 1 ассоциирован не с повышенной продуктивностью аулиекольских коров по признаку живого веса, а с пониженной продуктивностью по данному признаку.

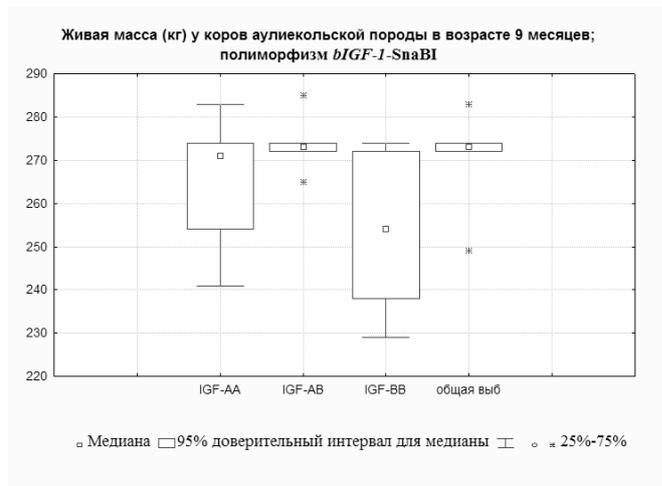
Таким образом, становится очевидно, что генотип *bIGF-1-SnaBI^{BB}* является генетическим маркером по-

ниженной живой массы телят в возрасте 9, 12 месяцев, и в возрастах 18 и 24 месяца эта тенденция сохраняется.

И таким образом работа с этим генетическим маркером должна строиться не на отбор по предпочтительному генотипу, а на элиминацию негативного генотипа *bIGF-1-SnaBI^{BB}*.



4а



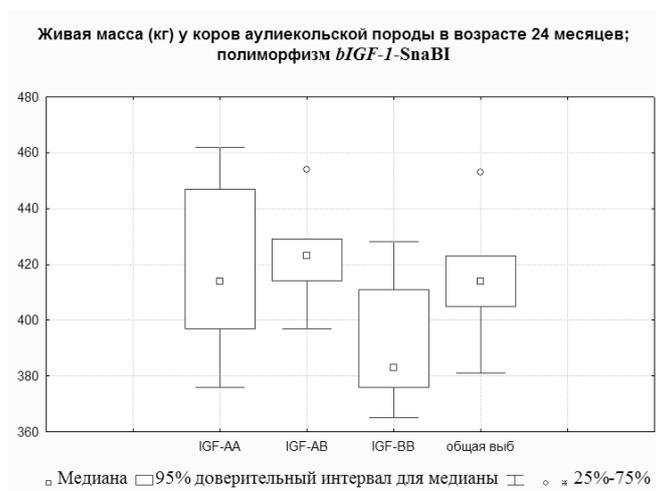
4б



4в



4г



4д

Рис. 2. Живая масса (кг) у коров аулиекольской породы в возрасте 6, 9, 12, 18, 24 месяцев; полиморфизм *bIGF-1*

Аналогично проводились исследование ассоциаций генотипов с индексами сбитости, костистости, растянутости, массивности и шилозадости.

Таким образом, характеризуя фенотипические эффекты полиморфных вариантов генов соматотропного каскада на признаки мясной продуктивности у коров аулиекольской породы, можно отметить следующее:

1. Ассоциация генотипов с признаками мясной продуктивности установлена для полиморфизмов:

- ◆ *bPit-1*-HinfI — признаки живой массы в возрасте 18 и 24 месяца, индекс шилозадости в возрасте 18, 24 месяца;
- ◆ полиморфизм *bGH*-AluI ассоциирован с признаком шилозадости в возрасте 18, 24 месяца;
- ◆ полиморфизм *bIGF-1*-SnaBI — признаки живой массы в возрасте 6, 9, 12, 18, 24 месяца, сбитость в возрасте 18, 24, костистость в возрасте 12, 18, 24 месяца, растянутость в возрасте 18, 24 месяца, массивность в возрасте 12, 18, 24 месяца, шилозадость в возрасте 12, 18, 24 месяца.

2. По полиморфизму *bPit-1*-HinfI генотип *bPit-1*-HinfI^{AA} можно считать генетическим маркером повышенной живой массы коров в возрасте 18 месяцев,

а также маркером пониженного индекса шилозадости в возрасте 24 месяца.

По полиморфизму *bGH*-AluI ни предпочтительный не альтернативные генотипы не целесообразно рассматривать в качестве генетических маркеров индекса шилозадости, так как у коров с генотипами *bGH*-AluI^{LL}, *bGH*-AluI^{LV} и *bGH*-AluI^{VV} значения индекса располагаются в пределах срединных значений общей выборки. Таким образом, отбор животных на предпочтительный генотип не даст ожидаемого результата, так как значение индекса шилозадости у коров с предпочтительным генотипом соответствует значению общей выборки.

Генотип *bIGF-1*-SnaBI^{BB} полиморфного гена инсулиноподобного фактора роста-1 является генетически маркером пониженной живой массы телят в возрасте 9, 12 месяцев (и в возрастах 18 и 24 месяца эта тенденция сохраняется), сниженных индексов сбитости (в возрасте 12 месяцев), пониженного индекса растянутости (в возрасте 24 месяца), массивности (в возрасте 12 месяцев), шилозадости (в возрасте 12 и 24 месяца).

3. Работа с полиморфизмом *bIGF-1*-SnaBI, как с генетическим маркером должна строиться не на отбор по предпочтительному генотипу, а на элиминацию негативного генотипа *bIGF-1*-SnaBI^{BB}.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boichard, D. Implementation of marker — assisted selection: practical lessons from dairy cattle / D. Boichard [et al.] // 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18. — 2006 / Belo Horizonte M. G. Brasil, 2006. — Vol. 34. — P. 186.
2. Chamberlain, A. J. Testing marker assisted selection in a real breeding program / A. J. Chamberlain, M. E. Goddard // 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18. — 2006 / Belo Horizonte M. G. Brasil. — 2006. — Vol. 34. — P. 184.
3. Goddard, M. E. Can the same genetic markers be used in multiple breeds? / M. E. Goddard [et al.] // 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18. — 2006 / Belo Horizonte M. G. Brasil. — 2006 Vol. 34. — P. 191.
4. Thomsen, H. The choice of phenotypes for use of marker assisted selection in dairy cattle / H. Thomsen // 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18. — 2006 / Belo Horizonte M. G. Brasil. — 2006 Vol. 34. — P. 181.
5. Повышение белково-молочности крупного рогатого скота с использованием молекулярно-генетических маркеров: методические рекомендации / В. А. Солошенко [и др.]. — Новосибирск: Издательство ГНУ Сибирский НИИ животноводства Россельхозакадемии, 2011. — 32 с.
6. Edriss, V. Pit1Gene polymorphism of Holstein Cows in Isfahan Province / V. Edriss, V. A. Edriss, H. R. Rahmani // Biotechnology. — 2008. — Vol. 7. — № 2. — P. 209–212.
7. Белая Е. В. Оценка индивидуального фенотипического эффекта полиморфных вариантов генов гипофизарного фактора роста-1 (*bPit-1*) и инсулиноподобного фактора роста-1 (*bIGF-1*) на признаки молочной продуктивности у черно-пестрого голштинизированного крупного рогатого скота / Е. В. Белая, М. Е. Михайлова, Н. В. Батин // Молекулярная и прикладная генетика: сб. науч. тр. — 2012. — Т. 13. — С. 30–35.
8. Никитин В. Я., Миролюбов М. Г. Ветеринарное акушерство и биотехника размножения. — М.: Колос, 2000. — С. 23–30.
9. Михайлова М. Е., Белая Е. В. Влияние полиморфных вариантов генов соматотропного каскада *bGH*, *bGHR* и *bIGF-1* на признаки молочной продуктивности у крупного рогатого скота голштинской породы // Доклады Национальной академии наук Беларуси. — 2011. — Т. 55. — № 2. — С. 63–69.
10. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. — Москва: «МедиаСфера», 2002. — 312 с.

© Бейшова Индира Салтановна (indira_bei@mail.ru), Белая Елена Валентиновна (kolyuchka005@rambler.ru),

Траисов Балуаш Бакишевич (btraisov@mail.ru), Ульянов Вадим Александрович (vadimkst@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»