

**ПОЛИМОРФИЗМ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА LEP КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЙ
МАРКЕР ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ДОЛГОЛЕТИЯ
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА АЙРШИРСКОЙ ПОРОДЫ**

Ковалюк Наталья Викторовна

*д-р биол. наук, профессор, Кубанский государственный университет,
350040, РФ, Краснодар, улица Ставропольская, 149
E-mail: nvk1972@yandex.ru*

Гырнец Евгений Анатольевич

*бакалавр, магистрант, Кубанский государственный университет,
350040, РФ, Краснодар, улица Ставропольская, 149
E-mail: evgenijgyrnets@mail.ru*

**POLYMORPHISM OF LEP GENE ALLELE AS A GENETIC MARKER
OF FUNCTIONAL LONGEVITY OF AYRSHIRE CATTLE**

Natalia Kovalyuk

*Doctor of Biological Sciences, professor, Kuban State University,
350040, Russia, Krasnodar, Stavropolskaya Street, 149*

Eugene Gyrnets

*Bachelors, masters, Kuban State University,
350040, Russia, Krasnodar, Stavropolskaya Street, 149*

АННОТАЦИЯ

Проблема короткого функционального долголетия крупного рогатого скота остается одной из главных нерешенных проблем сельского хозяйства. Метод ПЦР/ПДРФ позволяет выявить генетические маркеры, имеющие преимущество при селекции по признаку функционального долголетия. К таким маркерам относится ген гормона лептина.

ABSTRACT

The problem of short functional longevity of cattle remains one of the major unsolved problems of agriculture. PCR / RFLP method allows identifying genetic markers that have an advantage in the selection based on functional longevity. Hormone leptin gene is such a marker.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, ген LEP, полиморфизм, частота встречаемости.

Keywords: Cattle, the LEP gene, polymorphism, the frequency of occurrence.

Молочное скотоводство является важной отраслью современного мирового сельского хозяйства. В мире насчитывается около 1,5 млрд голов крупного рогатого скота (КРС). Поэтому поиск решения проблемы, связанной с повышением рентабельности и производства, является приоритетом для работников сельского хозяйства [2].

При этом лимитирующим фактором является функциональное долголетие, так как оно непосредственно влияет на пожизненный надой молока, количество приплода и, в конечном счете, на совершенствование пород и стада [1]. Поэтому в современном животноводстве чрезвычайно важную роль играют высокопродуктивные коровы с продолжительным сроком их использования.

Повысить срок функционального долголетия крупного рогатого скота селекционными методами поможет поиск генетических маркеров и исследования по оценке связи между SNP-маркерами, локализованными в выбранных генах и функциональным долголетием молочных коров.

К таким маркерам относятся полиморфизмы гена гормона лептина (LEP): R25C, Y7F, A80V [5]. Помимо влияния LEP-генотипа на функциональное долголетие от него также зависит пищевое поведение энергетический обмен. Возможно, он влияет на функционирование иммунной системы и репродуктивную функцию, а также на рост и конституцию животных [4]. Считается, что лептин обладает плеiotропным воздействием на организм [3].

Материалы и методы.

Исследование проводилось в 2014 году в период с 17.06.14 по 27.07.14 и с 02.09.14 по 12.10.14 на базе лаборатории биотехнологии СКНИИЖ. Объектом исследования явились быки-производители и коровы айрширской породы. Материалом исследования являлись сперма быков-производителей, кровь молодых коров и коров пятой – девятой лактации, а также кровь телок, потомков одного из генотипированных быков. Всего было проанализировано 272 образца. Для выделения ДНК из спермы и крови использовали наборы реагентов Diatom™ DNA Prep 100 ООО Лаборатория «Изоген» г. Москва. Выход ДНК составлял 3-5 мгк/100 мкл с OD 260/280 от 1,6 до 2,0.

Образцы исследовались методом ПЦР/ПДРФ на наличие полиморфизмов R25C, A80V, Y7F в гене LEP. По результатам анализа определена частота встречаемости генотипов гена LEP по полиморфизму R25C: RR, RC и CC; по полиморфизму A80V: AA, AV и VV; и по полиморфизму Y7F6: YY, YF и FF; а также была установлена связь между генотипами LEP и функциональным долголетием крупного рогатого скота.

Для расчетов применялись критерий Стьюдента и критерий χ^2 .

Результаты и обсуждения.

Для определения преимущества различных генотипов LEP в одну выборку вошли коровы с максимальным сроком использования (5 – 9 лактаций), а в другую – коровы-рекордистки по первой законченной лактации (коровы с удоем свыше 7800 кг за первую законченную лактацию), т.к. обычно срок их функционального долголетия в среднем по стаду ниже.

Нами было установлено, что айрширская порода скота имеет ряд особенностей, отличных от закономерностей, выявленных зарубежными авторами для голштинской породы (таблица 1).

Таблица 1.

Генотипы LEP по полиморфизмам R25C, Y7F, A80V айрширского скота

SNP LEP	Генотип	Айрширский скот			
		Коровы 5-9 лактации (n=104)	Коровы 1-3 лактации (n=102)	потомки быка с генотипом RRFFAA (n=34)	в группе быков - производителей (n=32)
R25C	RR	0.28	0.26	0.86	0.53
	RC	0.49	0.53	0.14	0.40
	CC	0.23	0.21	0.00	0.06
Y7F	YY	0.51	0,61	0.00	0.50
	YF	0.46	0,34	0.41	0.41
	FF	0.03	0,5	0.59	0.09
A80V	AA	0.96	0,98	1.00	1.00
	AV	0.04	0,02	0.00	0.00
	VV	0.00	0,00	0.00	0.00

Например, частота встречаемости генотипов LEP-R25C (замена С→Т в позиции 96590050 п.н. LEP), непосредственно влияющих на функциональное долголетие голштинского скота, значительных различий у коров-долгожительниц и коров-рекордисток не имеет. Обращает на себя внимание генотип RR, встречающийся у коров-долгожительниц чаще (0,28) чем у рекордисток (0,26).

Расчет критерия χ^2 показал, что ни один из генотипов селекционного преимущества не имеет.

Второй особенностью породы является отсутствие у большинства айрширов полиморфизма аллелей LEP-A80V (замена С→Т в позиции 95689996 п.н. LEP). Частота встречаемости аллели V у айрширов не превышает 0,03, а гомозиготный генотип по ней нами не был идентифицирован ни у одного животного.

При анализе частот встречаемости генотипов полиморфизма LEP-Y7F у айрширского скота отмечено, что во всех выборках очень низкая частота встречаемости гомозигот FF, несмотря на высокую частоту встречаемости YF в группах коров-долгожительниц (0,46) и неоднородность происхождения (анализировались потомки 20 быков). Гетерозиготные животные (YF) среди коров-рекордсменок встречались с частотой несколько меньшей (0,34).

Аллель F достаточно распространен. Его частота встречаемости от 0,21 до 0,34. Однако частота встречаемости гомозигот FF не больше 0,5, что может свидетельствовать о сниженной жизнеспособности животных с таким генотипом. Однако это явление может быть результатом и других процессов, например, дрейфа генов.

Для того, чтобы проверить, на каком из этапов онтогенеза животного аллель F может выбывать из стада нами было проведено генотипирование потомков быка-производителя с генотипом RRFFAA. Выяснилось, что частота аллеля F также достаточно высока (0,79), однако она встречается не только в гетерозиготном генотипе, но и в гомозиготном генотипе в 59 процентах случаев. Это говорит о том, что животные не выбывают в пренатальном периоде онтогенеза, т.к. в двух – трех месячном возрасте тёлки с генотипом FF встречаются с высокой частотой. За генотипированной выборкой телок будет установлено наблюдение с целью определения периода хозяйственного использования каждой из них.

Еще одной интересная особенность – сцепление генотипов у айрширской породы скота. Так в выборке животных (n=38) с генотипами CCYY, CCYF, CCFF в 90 % случаев встречается сочетание CCYY, в 10 % – генотип CCYF. В тоже время сочетания YF с отличными от CC генотипами (RR и RC) возможны и встречаются с высокой частотой.

Такую же тенденцию к сцеплению имеет и генотип FF. По полученным данным у 33 животных с генотипом FF он встречается в сочетании с генотипом RR в 100 % случаев для возможных сочетаний генотипов CCFF, RCFF и RRFF.

В итоге мы пришли к выводу, генотипы сцеплены по принципу комбинации «слабый» плюс «сильный» и «сильный» плюс «слабый» в плане функционального долголетия (генотип CC хуже RR, а FF хуже YY). При этом такие «слабые» комбинации как CCFF не встречаются.

Таким образом, нами сделан вывод, что при подборе быков производителей при селекции по признаку функционального долголетия

следует избегать генотипов, которые при скрещивании могут дать комбинации: RRFF, RCFF, CCYF, CCFF.

Список литературы:

1. Сивкин Н.В. Опыт разведения шведской красной породы в Центральной России // Зоотехнология. – 2011. – № 2. – С. 58–60.
2. Суровцев В.Н., Никулина Ю.Н. Экономические аспекты продуктивного долголетия коров / [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <http://fs-1.5mpublishing.com/agritimes/cowlongevity2014/%D0%92.%D0%9D.%20%D0%A1%D1%83%D1%80%D0%BE%D0%B2%D1%86%D0%B5%D0%B2%20%20%D0%AD%D0%BA%D0%BE%D0%BD%D0%BE%D0%BC%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5%20%D0%B0%D1%81%D0%BF%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%8B%20%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%B8%D0%B2%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE%20%D0%B4%D0%BE%D0%BB%D0%B3%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%B8%D1%8F.pdf> (дата обращения: 19.11.2015).
3. Giblin L., Bytler S., Kearney B., Waters S. All Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires // BMC Genetic. – 2010. – № 11. – P. 73.
4. Komisarek J. Impact of LEP and LEPR gene polymorphisms on functional traits in Polish Holstein – Friesian cattle // Animal Science Papers and Reports. – 2010. – № 10. – P. 133–141.
5. Scyda J. Evaluating markers in selected genes for association with functional longevity of dairy cattle // NCBI. BioMed central genetics. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3061949> (дата обращения: 19.01.2014).