

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ

*Бейшова И.С., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,
Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения
«Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова»,
Белая Е.В., кандидат биологических наук, научный сотрудник,
Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,
Усенбеков Е.С., кандидат биологических наук, доцент,
Казахский национальный аграрный университет,
Терлецкий В.П., доктор биологических наук, главный научный сотрудник, профессор,
Крутикова А.А., научный сотрудник,
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения
сельскохозяйственных животных» Российской академии наук (ФГБНУ ВНИИГРЖ РАН),
Поддудинская Т.В., младший научный сотрудник,
Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения
«Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова»*

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОГОЛОВЬЯ БЫКОПРОИЗВОДЯЩИХ КОРОВ АУЛИЕКОЛЬСКОЙ И КАЗАХСКОЙ БЕЛОГОЛОВОЙ ПОРОД ПО ПОЛИМОРФНЫМ ВАРИАНТАМ ГЕНОВ *bPit-1*, *bGH*, *bGHR*

Аннотация: с древних времен Казахстан представлял собой страну кочевников-животноводов. Именно скот для казахов во все времена был мерилем всех благ.

Но, хотя сельскохозяйственная отрасль Казахстана по ее роли в структуре и в целом в воспроизводственном процессе экономики является базовой, приходится констатировать, что в настоящее время наша республика превратилась из экспортера в импортера мясной продукции. Новые экономические условия диктуют необходимость коренного улучшения селекционно-племенной работы, повышения ее эффективности и надежности.

В настоящее время достижения молекулярной генетики позволяют определять гены, контролирующие хозяйственно-полезные признаки животных. Выявление аллельных вариантов генов позволит дополнительно к традиционному отбору животных проводить селекцию непосредственно на уровне ДНК. Аллельные варианты функциональных генов возникают в результате различных модификаций нуклеотидного состава, таких как точечные мутации (однонуклеотидный полиморфизм, single nucleotide polymorphism – SNP), инсерции/делеции (indel) и т.д. В любом случае выявление полиморфизма и последующее изучение его корреляции с продуктивными признаками служат основой дальнейшей направленной селекции. Большой интерес для повышения мясной продуктивности крупного рогатого скота представляют гены соматотропинового каскада, белковые продукты которых являются ключевыми звеньями одной гуморальной цепи, участвующей как в процессе лактации, так и в процессах роста и развития млекопитающих (*bPit-1*, *bGH*, *bGHR*). В статье представлены результаты оценки частот аллелей генов *bPit-1*, *bGH* и *bGHR* у аулиекольской и казахской белоголовой пород крупного рогатого скота. Характер распределения частот аллелей соответствует данным других авторов, полученным на других породах. Исследование ассоциации полиморфных вариантов генов *bPit-1*, *bGH* и *bGHR* с признаками мясной продуктивности рекомендовано для популяций аулиекольского и казахского белоголового скота.

Ключевые слова: аулиекольская порода, казахская белоголовая порода, мясная продуктивность, полиморфизм

Маркер-сопутствующая селекция (MAS-селекция) является одной из новейших и бурно развивающихся за рубежом технологий селекции, позволяющая ускорить темпы селекции и сократить финансовые затраты при осуществлении классических селекционных мероприятий. Эта технология использует информацию о фенотипическом проявлении аллелей генов, отвечающих за

количественные признаки чтобы оценить генетический потенциал продуктивности животных на ранних этапах постнатального развития [1, 2, 3].

На данный момент в Республике Казахстан сформировалась острая потребность в модернизации отрасли мясного скотоводства. Решение этой проблемы предполагает, наряду с ввозом высокопродуктивных пород зарубежной селекции, интен-

сификацию селекции местных пород, таких как аулиекольская и казахская белоголовая, которые хорошо адаптированы к условиям климата, кормовой базе и обладают устойчивым иммунитетом к заболеваниям, распространенным на территории республики.

У крупного рогатого скота выявлен широкий набор аллелей генов *bPit-1*, *bGH* и *bGHR*, представляющих интерес для MAS-селекции в качестве генетических маркеров хозяйственно полезных признаков. Для аулиекольской и казахской белоголовой породы на сегодняшний день данные об ассоциации данных генов с продуктивностью отсутствуют.

На основании вышеизложенного, целью работы было изучить частоты аллелей потенциальных генетических маркеров (*bPit-1-HinFI*, *bGH-AluI* и *bGHR-SspI*) для оценки перспектив их применения в селекционных программах крупного рогатого

скота аулиекольской и казахской белоголовой пород.

Материалы и методы

Объектом исследования послужила выборка коров аулиекольской породы ($n=226$) и казахской белоголовой породы ($n=297$).

Предмет исследования: полиморфные гены соматотропинового каскада: *bPit-1*, *bGH*, *bGHR*.

Материал исследования – образцы ДНК, выделенной из крови коров аулиекольской и казахской белоголовой пород, предоставленные ТОО «Каркын» Костанайской области. Источником информации о продуктивности животных послужили племенные карты животных.

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

Таблица 1

Индивидуальные характеристики условий ПЦР для исследуемых полиморфных локусов генов соматотропинового каскада

Поли-морфизм	Условия амплификации	Последовательности праймеров	Ссылки
<i>bPit-1-HinFI</i>	94°C – 1 мин; (95°C – 45 сек; 56°C – 6° сек; 72° C – 6° сек) x 35 циклов; 72°C – 1° мин	<i>HinFI-F</i> : 5'-aaaccatcatctcccttctt-3'	[4]
		<i>HinFI-R</i> : 5'-aatgtacaatgtcttctgag-3'	
<i>bGH-AluI</i>	95°C – 5 мин; (95°C – 3° сек; 64°C – 3° сек; 72°C – 6° сек) x 35 циклов; 72°C – 1° мин	<i>AluI-F</i> : 5'-ccgtgtctatgagaagc-3'	[5]
		<i>AluI-R</i> : 5'-gttcttgagcagcgcggt-3'	
<i>bGHR-SspI</i>	95°C – 5 мин; (95°C – 3° сек; 62°C – 3° сек; 72°C – 3 сек) x 35 циклов; 72°C – 1° мин	<i>SspI-F</i> : 5'-aatactgggctagcagtgacaatat-3'	[6]
		<i>SspI-R</i> : 5'- acgtttcactgggtgatga -3'	

Анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов включал обработку амплификата сайт-специфической рестриктазой и последующее разделение полученных фрагментов с помощью гель-электрофореза.

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ генетической структуры исследуемых популяций включал сравнение распределения частот аллелей, а также анализ соответствия наблюдаемых частот генотипов теорети-

чески ожидаемому равновесному распределению в соответствии с законом Харди-Вайнберга.

Частоты аллелей исследуемых генов в популяции аулиекольской и казахской белоголовой скота приведены в табл. 2. Статистическая оценка значимости различий между породами проводилась путем нахождения расчетного уровня значимости P по значению t -критерия и числу степеней свободы из таблиц распределения Стьюдента.

Таблица 2

Распределение относительных частот аллелей исследуемых генов в популяциях аулиекольского (n=226) и казахского белоголового скота (n=297)

Поли морфизм	Аллель	Наблюдаемые частоты аллелей		Относительные частоты аллелей		P
		Аулиекольская порода	Казахская белоголовая	Аулиекольская порода	Казахская белоголовая	
<i>bPit-1-HinFI</i>	<i>bPit-1-HinFI^B</i>	154	188	0,341±0,002	0,320±0,002	0,0445
	<i>bPit-1-HinFI^A</i>	298	400	0,659±0,002	0,680±0,002	
<i>bGH-AluI</i>	<i>bGH-AluI^V</i>	159	103	0,352±0,002	0,175±0,001	0,000
	<i>bGH-AluI^L</i>	452	485	0,648±0,002	0,825±0,001	
<i>bGHR-SspI</i>	<i>bGHR-SspI^Y</i>	18	48	0,040±0,000	0,082±0,001	0,000
	<i>bGHR-SspI^F</i>	434	540	0,960±0,000	0,918±0,001	

Примечание: различие по распределению частот аллелей между породами значимо при $P < 0,05$

По данным, приведенным в таблице 2 можно отметить, что для полиморфизма *bPit-1-HinFI* у обеих пород редким является аллель *bPit-1-HinFI^A*.

Эти данные соответствуют результатам Zhao et al., полученным при исследовании ангусского мясного скота [7]. В частности, в его работах частота аллеля *bPit-1-HinFI^A* составляет 0,33. По данным Yang et al [8], соотношение аллелей A/B у Nanyang cattle, Qinchuan cattle, Jiaxianhong cattle, izhen cattle, Luxi cattle и у голштинского скота составили 0,44/0,56, 0,48/0,52, 0,54/0,46, 0,42/0,58, 0,52/0,48, 0,48/0,52, соответственно. Таким образом, можно отметить, что частоты встречаемости аллеля *bPit-1-HinFI^A* отличаются в разных популяциях одной породы.

В исследованных популяциях соотношение аллелей *bPit-1-HinFI^B* / *bPit-1-HinFI^A* составляет 0,341/0,659 и 0,320/0,680 для коров аулиекольской и казахской белоголовой пород, соответственно. Тем не менее, сравнительный анализ показывает, что эти две мясные породы по характеру распределения частот аллелей гена *bPit-1* значительно различаются между собой.

Распределение частот аллелей *bGH-AluI^L* и *bGH-AluI^V* гена гормона роста по нашим данным, составляет 0,648/0,352 в популяции аулиекольской породы и 0,825/0,175 у коров казахской белоголовой пород.

Эти данные соотносимы с результатами исследования литовской популяции крупного рогатого скота черно-пестрой породы: соотношение аллелей *bGH-AluI^L* и *bGH-AluI^V* составляет 0,7 и 0,3, соответственно [6]. В тоже время в различных популяциях голштинского скота это соотношение

варьирует для аллеля *bGH-AluI^L* от 0,74 до 0,93, а для аллеля *bGH-AluI^V* – от 0,07 до 0,26 [5, 9]. Таким образом, сравнительный анализ частот аллелей полиморфизма *bGH-AluI* у изучаемых пород показывает их значимое различие между собой.

Соотношение частот редкого аллеля *bGHR-SspI^Y* и более распространенного аллеля *bGHR-SspI^F* составила 0,040/0,960 у представителей аулиекольской и 0,082/0,918 у казахской белоголовой породы крупного рогатого скота.

Отмечено, что частота этих аллелей значительно варьирует по данным разных авторов. Так, по данным Fontanesy et al., частота аллеля *bGHR-SspI^Y* у представителей джерсейской, голштинофризской и симментальской пород составляет 0,05, 0,27 и 0,10, соответственно. Частота аллеля *bGHR-SspI^F* у представителей этих пород достигает 0,95, 0,73 и 0,90, соответственно [10]. По данным Viitala et al, у финского аурширского скота соотношение частот аллеля *bGHR-SspI^F* и *bGHR-SspI^Y* составляет 0,89 и 0,11 [11]. Таким образом, наши данные находятся в пределах информации, опубликованной ранее другими авторами.

Необходимо отметить, что по распределению частот аллелей *bGHR-SspI^Y* и *bGHR-SspI^F*, анализируемые породы значимо различаются между собой.

Нами было проанализировано также соответствие распределения генотипов для исследуемых полиморфных генов соматотропинового каскада теоретически ожидаемому, по закону Харди-Вайнберга. Оценка значимости наблюдаемых отклонений проводилась с помощью критерия χ^2 . Полученные данные представлены в табл. 3.

Таблица 3

Распределение частот генотипов полиморфных генов соматотропинового каскада в популяциях аулиекольского и казахского белоголового скота (n=226 и 297, соответственно)

Поли-мор-физм	Генотип	Аулиекольская порода (n=226)			Казахская белоголовая порода (n=297)		
		n наблюдае-мое	n ожидае-мое	χ^2	n наблюдае-мое	n ожидае-мое	χ^2
<i>bPit-1-HinFI</i>	<i>bPit-1-HinFI</i> ^{BB}	27	26	0,05	25	30	1,49
	<i>bPit-1-HinFI</i> ^{AB}	100	102		138	128	
	<i>bPit-1-HinFI</i> ^{AA}	99	98		131	136	
<i>bGH-AluI</i>	<i>bGH-AluI</i> ^{VV}	28	28	0,00	5	9	2,63
	<i>bGH-AluI</i> ^{LV}	103	103		93	85	
	<i>bGH-AluI</i> ^{LL}	95	95		196	200	
<i>bGHR-SspI</i>	<i>bGHR-SspI</i> ^{YY}	3	0	21,12	8	2	22,08
	<i>bGHR-SspI</i> ^{FY}	12	17		32	44	
	<i>bGHR-SspI</i> ^{FF}	211	208		254	248	

Примечание: Допустимое значение χ^2 для одной степени свободы и 5%-ного уровня значимости составляет 3,84

Из табл. 3 видно, что в популяции аулиекольского и казахского белоголового крупного рогатого скота по полиморфизмам *bPit-1-HinFI* значение χ^2 составляет 0,05 и 1,49 соответственно, что свидетельствует в пользу соответствия наблюдаемого числа генотипов теоретически ожидаемым. То же самое можно отметить относительно распределения генотипов по полиморфизму *bGH-AluI*. В этом случае значение χ^2 составляет 0,00 и 2,63 для коров аулиекольской и казахской белоголовой пород, соответственно.

В то же время по полиморфизму *bGHR-SspI* значение χ^2 для коров аулиекольской и казахской белоголовой пород составляет 21,12 и 22,08, что свидетельствует в пользу статистически значимого отклонения наблюдаемого числа генотипов от равновесных у обеих пород. Это свидетельствует о наличии давления искусственного отбора в исследованных популяциях и возможной ассоциации данного полиморфизма с признаками продуктивности у крупного рогатого скота.

Заключение

В результате работы была проведена оценка генетической структуры быкопроизводящего поголовья коров аулиекольской и казахской

белоголовой пород по потенциальным генетическим маркерам мясной продуктивности: *bPit-1-HinFI*, *bGH-AluI* и *bGHR-SspI*. Установлены частоты аллелей исследуемых генов. Показано, что у обеих пород редкими являются аллели *bPit-1-HinFI*^B, *bGH-AluI*^V и *bGHR-SspI*^Y.

Установлено, что частота редких аллелей у обеих пород находится в пределах описанных другими авторами на породах как мясного, так и молочного направления.

Показано, что по всем трем полиморфизмам генетическая структура анализируемых пород различается между собой, следовательно, обе породы генетически уникальны и представляют интерес и ценность для дальнейших исследований.

Показано, что по полиморфизму *bGHR-SspI* у обеих пород наблюдается отклонение наблюдаемых частот генотипов от теоретически ожидаемых равновесных по закону Харди-Вайнберга, что в свою очередь свидетельствует о наличии давления искусственного отбора в исследованных популяциях и возможной ассоциации полиморфизма *bGHR-SspI* с хозяйственно-полезными признаками.

Литература

1. Parmentier I., Portetelle D., Gengler N., Pradi A., Bertozzi C., Vleurick L., Gilson R., Renaville R. Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection // *Domest. Anim. Endocrinol.* 1999. V. 17. P. 139 – 148.
2. Hines H.C., Ge W, Zhao Q, Davis M.E. Association of genetic markers in growth hormone and insulin-like growth factor I loci with lactation traits in Holsteins // *Animal Genetics.* 1998. V. 29. P. 69.
3. Дементьева Н.В., Терлецкий В.П., Тыщенко В.И., Яковлев А.Ф. Использование метода фингерпринтинга ДНК для изучения генетической дивергенции в популяциях сельскохозяйственных животных // *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук.* 2003. №1. С. 79 – 80.

4. Renaville R., Gengler N., Vrech A., Prandi A., Massart S., Corradini C., Bertozzi C., Mortiaux F., Burny A., Portetelle D. Pit-1 gene polymorphism, milk yield, and conformation traits for Italian Holstein – Friesian bulls // *J. Dairy Sci.* 1997. V. 80. P. 3431 – 3438.
5. Pawar R.S., Joshi C.G., Rank D.N. Growth hormone gene polymorphism and its association with lactation yield in dairy cattle. // *Indian journal of animal science.* 2007. V. 9. P. 884 – 888.
6. Skinkytė R., Zwierzchowski L., Riaubaitė L., Baltrėnaitė L., Miceikienė I. Distribution of allele frequencies important to milk production traits in lithuanian black & white and lithuanian red cattle // *veterinarija ir zootechnika.* 2005. T. 31 (53). P. 93 – 97.
7. Zhao Q., Davis M. E., Hines H. C. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle // *J. Anim. Sci.* 2004. V. 82. P. 2229 – 2233.
8. Yang D., Ouyang W., Zhang L., Lan X., Zhang C. Association of polymorphisms in the Pit-1intron 5 with body measurements in Chinese Cattle // *African Journal of Biotechnology.* 2012. V. 11 (42). P. 9906 – 9910.
9. Lucy M.C., Hauser S.D., Eppard P.J., Krivi G.G., Clark J.H., Bauman D.E., Collier R.J. Variants of somatotropin in cattle: Gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production // *Domestic Animal Endocrinology.* 1993. V.10. P. 325 – 333.
10. Fontanesy L., Scotti E., Tazzoli M., Davoli R. Investigation of allele frequencies of the growth hormone receptor (GHR) F279Y mutation in dairy and dual purpose cattle breeds // *Ital. J. Anim. Sci.* 2007. V. 6. P. 415 – 420.
11. Viitala S., Szyda J., Blott S., Schulmann N., Lidauer M., Mäki-Tanila A., Georges M., Vilkki J.H. The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire cattle // *Genetics.* 2006. V. 173. P. 2151 – 2164.

References

1. Parmentier I., Portetelle D., Gengler N., Pradi A., Bertozzi C., Vleurick L., Gilson R., Renaville R. Candidate gene markers associated with somatotrophic axis and milk selection // *Domest. Anim. Endocrinol.* 1999. V. 17. P. 139 – 148.
2. Hines H.C., Ge W., Zhao Q, Davis M.E. Association of genetic markers in growth hormone and insulin-like growth factor I loci with lactation traits in Holsteins // *Animal Genetics.* 1998. V. 29. R. 69.
3. Dement'eva N.V., Terleckij V.P., Tyshhenko V.I., Jakovlev A.F. Ispol'zovanie metoda fingerprintinga DNK dlja izuchenija geneticheskoy divergencii v populjacijah sel'skoho-zajstvennyh zhivotnyh // *Vestnik Rossijskoj akademii sel'skoho-zajstvennyh nauk.* 2003. №1. S. 79 – 80.
4. Renaville R., Gengler N., Vrech A., Prandi A., Massart S., Corradini C., Bertozzi C., Mortiaux F., Burny A., Portetelle D. Pit-1 gene polymorphism, milk yield, and conformation traits for Italian Holstein – Friesian bulls // *J. Dairy Sci.* 1997. V. 80. P. 3431 – 3438.
5. Pawar R.S., Joshi C.G., Rank D.N. Growth hormone gene polymorphism and its association with lactation yield in dairy cattle. // *Indian journal of animal science.* 2007. V. 9. P. 884 – 888.
6. Skinkytė R., Zwierzchowski L., Riaubaitė L., Baltrėnaitė L., Miceikienė I. Distribution of allele frequencies important to milk production traits in lithuanian black & white and lithuanian red cattle // *veterinarija ir zootechnika.* 2005. T. 31 (53). R. 93 – 97.
7. Zhao Q., Davis M. E., Hines H. C. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle // *J. Anim. Sci.* 2004. V. 82. P. 2229 – 2233.
8. Yang D., Ouyang W., Zhang L., Lan X., Zhang C. Association of polymorphisms in the Pit-1intron 5 with body measurements in Chinese Cattle // *African Journal of Biotechnology.* 2012. V. 11 (42). R. 9906 – 9910.
9. Lucy M.C., Hauser S.D., Eppard P.J., Krivi G.G., Clark J.H., Bauman D.E., Collier R.J. Variants of somatotropin in cattle: Gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production // *Domestic Animal Endocrinology.* 1993. V.10. P. 325 – 333.
10. Fontanesy L., Scotti E., Tazzoli M., Davoli R. Investigation of allele frequencies of the growth hormone receptor (GHR) F279Y mutation in dairy and dual purpose cattle breeds // *Ital. J. Anim. Sci.* 2007. V. 6. R. 415 – 420.
11. Viitala S., Szyda J., Blott S., Schulmann N., Lidauer M., Mäki-Tanila A., Georges M., Vilkki J.H. The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire cattle // *Genetics.* 2006. V. 173. P. 2151 – 2164.

*Beyshova I.S., Candidate of Agricultural Sciences (Ph.D.), Associate Professor,
Kostanay State University named after A. Baitursynov,
Belaya E.V., Candidate of Biological Sciences (Ph.D.), Research Officer,
Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus,
Usenbekov E.S., Candidate of Biological Sciences (Ph.D.), Associate Professor,
Kazakh National Agrarian University,
Terletskiy V.P., Doctor of Biological Sciences (Advanced Doctor), Senior Research Officer, Professor,
Krutikova A.A., Research Officer,
All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding Agricultural Animals of RAS,
Poddudinskaya T.V., Research Assistant,
Kostanay State University named after A. Baitursynov*

GENETIC POPULATION STRUCTURE BULLS-PRODUCING COWS AULIEKOL AND KAZAKH WHITE ROCKS POLYMORPHIC GENE VARIANTS BPIT-1, BGH, BGHR

Abstract: since ancient times, Kazakhstan was a country of nomadic livestock breeders. It was the cattle for the Kazakhs at all times that was the yardstick of all blessings.

But, although the agricultural sector of Kazakhstan in terms of its role in the structure and in the reproduction process of the economy as a whole is basic, we have to state that at present our republic has turned from an exporter to an importer of meat products. New economic conditions dictate the need for radical improvement of breeding and breeding work, increasing its efficiency and reliability.

At the present time, the achievements of molecular genetics make it possible to determine genes that control the utility of animals. Identification of allelic variants of genes will allow, in addition to the traditional selection of animals, to select directly at the level of DNA. Allelic variants of functional genes arise as a result of various modifications of the nucleotide composition, such as point mutations (single nucleotide polymorphism, single nucleotide polymorphism), insertions (indel), etc. In any case, the detection of polymorphism and the subsequent study of its correlation with productive features serve as the basis for further directed selection. The genes of the somatotropin cascade are of great interest for increasing the meat productivity of cattle, the protein products of which are the key links of one humoral chain involved in both lactation and in the growth and development of mammals (bPit-1, bGH, bGHR). The results of the estimation of allele frequencies of bPit-1, bGH and bGHR genes in Auliekol and Kazakh white-headed cattle breeds are presented in the article. The nature of the allele frequencies distribution corresponds to the data of other authors obtained on other rocks. A study of the association of polymorphic variants of the genes bPit-1, bGH and bGHR with signs of meat productivity is recommended for populations of Auliekol and Kazakh white-headed cattle.

Keywords: auliekol breed Kazakh white breed, meat productivity, polymorphism