

УДК 636.2.034:575.113

DOI: <https://doi.org/10.31073/abg.61.13>

МОЛОЧНА ПРОДУКТИВНІСТЬ КОРІВ-ПЕРВІСТОК З РІЗНИМИ ГЕНОТИПАМИ ЗА ГЕНОМ ГОРМОНУ РОСТУ

В. В. ДЗІЦЮК, І. Д. МІТІОГЛО, Н. Б. МОХНАЧОВА, М. Л. ДОБРЯНСЬКА

Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)

<https://orcid.org/0000-0001-9697-4165> – В. В. Дзіцюк

<https://orcid.org/0000-0001-5982-6542> – Н. Б. Мохначова

<https://orcid.org/0000-0001-9216-0527> – М. Л. Добрянська

valentynadzitsiuk@gmail.com

Досліджено поліморфізм гена гормону росту (GH) у корів-первісток монбельярдської породи. В роботі використано зразки крові від 30 голів корів-первісток монбельярдської породи. Спектр алелів гену гормону росту досліджували з використанням ПЛР-ПДРФ. Встановлено, що найбільша кількість корів є носіями гомозиготного генотипу LL. Середній надій за 305 днів першої лактації у корів з генотипом LL вищий, ніж у гетерозиготних корів з генотипом LV на 5,3%, вихід молочного жиру і білку у корів з генотипом LL переважав корів з генотипом LV на 25% і 16% відповідно ($p < 0,001$). Отримані результати дослідження свідчать ефективність використання гену GH в якості маркера ознак молочної продуктивності корів.

Ключові слова: корови-первістки, монбельярдська порода, ген гормону росту, молочна продуктивність, лактаційні криві

DAIRY PRODUCTIVITY OF FIRST COWS WITH DIFFERENT GENOTYPES BY GROWTH GENE

V. V. Dzitsiuk, I. D. Mitioglo, N. B. Mochnachova, M. L. Dobrjancka

Institute of Animal Breeding and Genetics nd. a. M.V.Zubets of NAAS (Chubynske, Ukraine)

Polymorphism of the growth hormone (GH) gene in first-born cows of the Montbeliard breed has been studied. Blood samples from 30 heads of first-born cows of the Montbeliard breed were used in the work. The spectrum of growth hormone gene alleles was investigated using PCR-RFLP. It was found that the largest number of cows are carriers of the homozygous genotype LL. The average hope for 305 days of the first lactation in cows with genotype LL is higher than in heterozygous cows with genotype LV by 5.3%, the yield of milk fat and protein in cows with genotype LL was higher than cows with genotype LV by 25% and 16% respectively ($p < 0.001$). The results of the study indicate the effectiveness of using the GH gene as a marker of signs of milk productivity in cows.

Keywords: cows Montbeliard breed, growth hormone gene, milk productivity, lactation curves

МОЛОЧНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК С РАЗНЫМИ ГЕНОТИПАМИ ПО ГЕНУ ГОРМОНА РОСТА

В. В. Дзіцюк, І. Д. Митіогло, Н. Б. Мохначова, М. Л. Добрянська

Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН (Чубинське, Україна)

Проведено дослідження поліморфізму гена гормону росту (GH) у корів-первотелок монбельярдської породи. В роботі використані образці крові від 30 голів корів-первотелок монбельярдської породи. Спектр алелів гена гормону росту досліджували з використанням ПЦР-ПДРФ. Установлено, що найбільше кількість корів є носителями гомозиготного генотипу LL. Середній надой за 305 днів першої лактації у корів з генотипом LL вище, ніж у гетерозиготних корів з генотипом LV на 5,3%, вихід молочного жиру і білка у корів з генотипом LL перевищує показники корів з генотипом LV на 25% і 16% відповідно ($p < 0,001$). Отримані результати свідчать про ефективність використання гена GH в якості маркера ознак молочної продуктивності корів.

Ключові слова: корови-первотелки, монбельярдська порода, ген гормону росту, молочна продуктивність, лактаційні криві

ВСТУП. Молочна продуктивність належить до складних кількісних ознак, які контролюються багатьма генетичними локусами і формуються під впливом чинників навколишнього середовища. Завдяки успішним розробкам молекулярної генетики у скотарстві стало можливим визначити вплив певних генів на продуктивність великої рогатої худоби і використовувати їх як маркери. Ідентифікація таких мутацій дозволила б відібрати на рівні ДНК генотипи тварин із бажаними для селекції ознаками. Одним із перспективних генів-кандидатів в асоціації із молочною продуктивністю худоби є ген гормону росту (GH), продукт якого через рецептори активує транскрипцію генів-мішеней білків молока [1].

Сучасні знання з молочного скотарства вказують на те, що ген гормону росту здійснює ключовий контроль у засвоєнні тваринами поживних речовин кормів [2], впливає на розвиток молочної залози [3], ріст і формування будови тіла [4], а також модулює метаболізм та імунні реакції [5]. Особливий інтерес представляє поліморфізм гену гормону росту з утворенням двох варіантів – Leu (L)/Val (V) у 5 екзоні гена, які відрізняються наявністю або лейцину (Leu) або валіну (Val) в амінокислотному ланцюгу [6].

Пошуку асоціацій цих варіантів гена гормону росту з молочною продуктивністю у худоби різних порід присвячена низка робіт вітчизняних і зарубіжних дослідників. Так, окремі автори повідомляють, що гомозиготний варіант генотипу GH^{LL} асоційований з підвищеною жирністю молока, гетерозиготний GH^{LV} – з вмістом білка в молоці, GH^{VV} – з високими надоями [7, 8]. Інші автори наводять аргументи, що тварини з генотипом LV перевершують тварин з іншими варіантами генотипів за рівнем надою, а найбільша жирність відмічена у корів з гомозиготним генотипом LL.

Таким чином, відповіді окремих дослідників на питання, як різні генотипи за геном гормону росту асоціюються із рівнем надою, білковомолочністю і жирністю молока і чи залежить це від породи великої рогатої худоби, залишаються суперечливими.

Метою нашої роботи було вивчення алельного поліморфізму гену гормону росту в групі корів монбельярдської породи і пошук асоціацій різних його генотипів з параметрами динаміки рівня надою протягом лактації.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проведені у лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин НААН на групі із 30 корів монбельярдської породи великої рогатої худоби із ПОСП «Жадківське» Чернігівської області.

Геномну ДНК виділяли із лейкоцитів крові за стандартною методикою з використанням набору «ДНК-сорб-В» («Амплі-Сенс», РФ). ПЛР-суміш (10 мкл) у своєму складі містила: буфер для ДНК-полімерази – 2 мкл, ДНК-полімеразу (Fermentas, Литва) – 0,2 мкл, трифосфати – 1 мкл, праймер – 0,8 мкл, деіонізовану воду – 4 мкл, ДНК – 2 мкл. Температурний режим ПЛР-ампліфікації для гена гормону росту такий: початкова денатурація – 4 хв. при 95⁰ С; 35 циклів: денатурація – 30 с при 95⁰С, випал праймерів – 15 с при 65⁰С, синтез – 60 с при 72⁰С, термінальна елонгація – 5 хв. при 72⁰С.

Для ампліфікації фрагменту гена гормону росту використовували такі праймери:

5' – GCTGCTCCTGAGGGCCCTTC– 3'

5' – GCGGCCGGCACTTCATGACCC– 3'.

Отриманий ампліфікований фрагмент довжиною 223 п. н. для виявлення алельних варіантів L і V обробляли рестриктазою Alu I за схемою: H₂O 3,5 мкл, буфер – 1,5 мкл, AluI – 0,5 мкл, ПЛР-суміш – 10 мкл.

Продукти рестрикції розділяли методом горизонтального електрофорезу у 3% агарозному гелі.

Молочну продуктивність корів-первісток визначали щомісячно шляхом контрольних доїнь. Типи лактаційних кривих вивчені за методикою А. С. Ємельянова (1953) [9].

Статистичну обробку даних проводили з використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel.

Результати досліджень. Поліморфізм гена гормону росту (GH) у досліджених нами корів-первісток представлений двома алелями L і V, частота яких відрізняється, відповідно відрізняються і частоти генотипів. Як видно із наведених даних (табл. 1), у дослідженій групі тварин були виявлені всі можливі генотипи гену гормону росту: із 30 корів-первісток 25 (83%) мають генотип LL, 4 (13%) корови – генотип LV і лише 1 тварина мала генотип VV. При цьому частота алелю L складає 0,9, а алелю V – 0,1.

1. Поліморфізм гена GH у корів-первісток монбельярдської породи

Ген	Генотипи	Частота генотипів	Частота алелів	H ₀	H _e	χ ²	F _{IS}
GH	LL	0,83	L – 0,9	0,133	0,180	1,41	0,216
	LV	0,13	V – 0,1				
	VV	0,03					

Примітка: p – частота генотипу; H₀ – експериментальна (фактична) гетерозиготність; H_e – очікувана гетерозиготність; F – фіксаційний індекс

Розподіл частот генотипів GH відповідає критерію рівноважного стану за Харді-Вайнбергом: значення критерію χ² = 1,41 свідчить, що в групі первісток немає статистично достовірного зсуву генетичної рівноваги за жодним генотипом.

Значення очікуваної гетерозиготності (H_e) близькі до значень фактичної гетерозиготності (H₀) і складають 0,180 і 0,133 відповідно.

Частота алелю L склала 0,9, алелю V – 0,1. За повідомленнями авторів, які досліджували поліморфізм гена GH у великої рогатої худоби частота алеля GH^L у різних порід великої рогатої худоби варіює в межах від 0,500 до 0,880 [10, 11]. Так, у статті Li Zhou et al. [12] зазначається, що максимальна кількість тварин у дослідженій ними популяції голштинської породи у Китаї мала генотип LL (0,77), а генотип VV був зафіксований у найменшій кількості тварин стада (0,02). За даними Долматовой с соавт. [13] частота генотипу LL у тварин чорно-рябої породи становить 0,195, у симентальської – 0,37, у бестужевської – 0,085. За повідомленням дослідників із Тунісу [14] частоти генотипів у голштинської породи становили 0,77, 0,18 та 0,03 для LL, LV та VV відповідно.

Отримані нами результати дослідження групи корів-первісток монбельярдської породи свідчать, що частоти алелів L і V дещо навіть перевищують верхню і нижню межі діапазону даного показника, виявленого у роботах інших дослідників.

Порівняльним аналізом молочної продуктивності корів різних генотипів за геном GH встановили, що середній надій за 305 днів першої лактації групи корів з генотипом LL був вищим за надій у групі гетерозиготних корів за генотипом LV на 352 кг. За виходом молочного жиру і білку корови з генотипом LL значно переважали корів з генотипами LV (жиру на 74 кг, а білку на 36 кг відповідно, p < 0,001) (табл. 2).

2. Молочна продуктивність корів-первісток з різними генотипами гена гормону росту (GH)

Показники	Генотипи GH		
	LL (25 гол.)	LV (4 гол.)	VV (1 гол.)
Надій за 305 днів, кг	6658 ± 146	6306 ± 127	6193 ± 421
Вміст жиру, %	4,45 ± 0,03	3,84 ± 0,06	4,0 ± 0,10
Вміст білку, %	3,20 ± 0,03	3,47 ± 0,02	2,98 ± 0,05
Молочний жир, кг	293 ± 6,8*	219 ± 3,8*	222 ± 16,3
Молочний білок, кг	216 ± 7,0	180 ± 5,5	172 ± 12,9

Щодо асоціацій поліморфізму гена GH і ознак виробництва молока в літературі можна знайти низку суперечливих даних, з яких можна зробити висновок, що асоціативні зв'язки варіюють і змінюються залежно від породи великої рогатої худоби. Так, Lechniak D. et al. опублікували результати досліджень про вищі надії у тварин голштинської породи з алелем L, тоді як V-варіант є більш ефективним для отримання вищого рівня надоеів у джерсейської породи [15]. Дослідженнями Grochowska et al. [7] на польській худобі розкрито суттєві відмінності у надоях у різних генотипів L/V. За величиною надоею корови з генотипом LV перевершують інших, а у корів з гомозиготним генотипом LL відмічена найбільша жирність молока. За результатами досліджень корів голштинської породи Губаренко із спіавт. [16] встановлено, що гомозиготні напівсибси генотипу LL переважали гетерозиготних напівсибсів генотипу LV за надоем, кількістю молочного жиру і кількістю молочного білка. Наші результати досліджень корів монбельярдської породи підтверджують ці спостереження.

Аналіз динаміки помісячного надоею досліджених корів за 305 днів першої лактації засвідчив, що продуктивність корів з генотипом LL переважає середньомісячні надії інших груп тварин на початку (з 1 по 3-й місяць), на піку лактації (4-й місяць) і в кінці лактації (з 8 по 10-й місяць) (табл. 3).

3. Динаміка надоею первісток з різними генотипами гена гормону росту GH впродовж лактації, кг

Місяць лактації	Генотип за капа-казеїном		
	LL (n = 25)	LV (n = 4)	VV (n = 1)
1	594 ± 23,9	580 ± 22,3	606
2	756 ± 28,3	610 ± 25,2	662
3	773 ± 27,9	742 ± 21,3	779
4	817 ± 27,7*	716 ± 19,6*	705
5	757 ± 26,4	712 ± 22,3	670
6	712 ± 27,0	680 ± 20,7	640
7	665 ± 27,1	635 ± 21,6	600
8	607 ± 27,3	599 ± 24,8	569
9	525 ± 28,2	523 ± 22,9	486
10	452 ± 27,5	509 ± 20,5	476
За лактацію	6658	6306	6193

Примітка: * $P < 0,05$

Достовірні критерії різниці середніх виявлені між групами LL і LV на 1-му ($p < 0,1$), 4-му ($p < 0,05$) і 10-му ($p < 0,5$) місяцях лактації.

У цілому за 305 днів першої лактації первістки з генотипом GH^{LL} мали кращі показники за надоем порівняно з ровесницями з іншими генотипами гена гормону росту.

Дисперсійним аналізом встановлено, що отримана частка мінливості за надоем у тварин з різними генотипами за геном GH обумовлена випадковими чинниками.

Аналіз лактаційних кривих первісток засвідчив, що надії корів з усіма трьома варіантами генотипів за геном GH поступово зростали і досягали свого піку на 3–4 місяцях лактації, а

потім поступово знижувались (рис.). Така лактаційна крива, за класифікацією А. С. Ємельянова [9] характерна для тварин із високою і сталою лактаційною діяльністю, такі корови здатні добре засвоювати корми і продукувати високий надій.

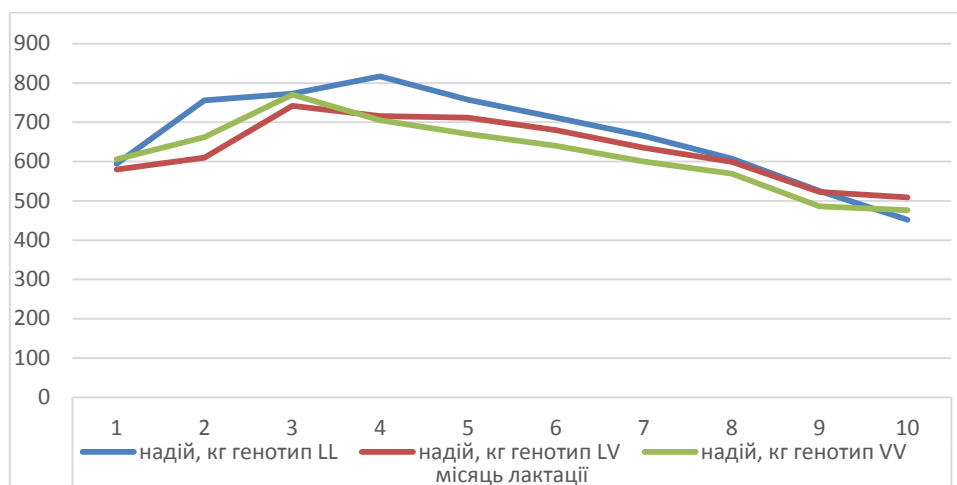


Рис. Лактаційні криві первісток з різними генотипами гена гормону росту

Хоча, як видно з рисунку, первістки з усіма варіантами генотипів за геном GH і мають схожий характер лактаційних кривих, все ж у корів з генотипом GH^{LL} пік лактації спостерігається на четвертому місяці, тоді як у тварин з генотипами GH^{LV} і GH^{VV} – на другому.

Висновки. Молекулярно-генетичним аналізом поліморфізму гена гормону росту визначено специфіку частот генотипів у групі корів-первісток монбельярдської породи: у дослідженій групі виявлено 83% тварин з генотипом GH^{LL}, 13% – з генотипом GH^{LV} і одна корова – з генотипом GH^{VV}.

Середній надій за 305 днів першої лактації групи корів з генотипом LL був вищим за надій у групі гетерозиготних корів за генотипом LV на 5,3%, вихід молочного жиру і білку у корів з генотипом LL переважав корів з генотипом LV на 25% і 16% відповідно ($p < 0,001$).

Статистично достовірною різницею за кількісними і якісними ознаками молочної продуктивності корів монбельярдської породи з різними варіантами генотипів за геном GH на прикладі групи корів із ПОСП «Жадківське» Чернігівської області дає підставу вважати, що застосування генетичних маркерів, зокрема гена гормону росту GH, є ефективним для відбору підбору та подальшого формування стада у напрямку підвищення показників молочної продуктивності.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Krasnopiorova N., Baltrėnaitė L., Miceikien I. Growth hormone gene polymorphism and its influence on milk traits in cattle bred in Lithuania. *Veterinarija ir zootechnika*. 2012. V. 58 (80). P. 42–46.
2. Bauman D. E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J. Dairy Sci.* 1992. V. 75. P. 3432–3451.
3. Sejrsen K., Foldager J., Sorensen M. T., Akem R. M., Bauman D. E. Effect of exogenous bovine somatotropin on pubertal mammary development in heifers. *J. Dairy Sci.* 1986. V. 69. P. 1528–1535.
4. Breier B. H., Giuckman P. D. The regulation of postnatal growth: nutritional influences on endocrine pathways and function of the somatotrophic axis. *Livst. Prod. Sci.* 1991. V. 27. P. 77–94.
5. Bialock J. E. The syntax of immuno-neuroendocrine communication. *Immun. today*. 1994. V. 115. P. 504–511.

6. Hediger R., Johnson S. E., Barendse W., Drinkwater R. E., Moore S. S., Hetzel J. Assignment of the GH gene locus to 19q26qter in cattle and to 11q25qter in sheep by in situ hybridization. *Genomics*. 1990. V. 8. P. 171–174.
7. Grochowska R., Sorensen P., Zwierzchowski L., Snochowski M., Lovendahl P. Genetic variation in stimulated GH release and in IGF-I of young dairy cattle and their associations with the leucine/valine polymorphism in the GH gene. *J. Anim. Sci.* 2001. V. 79. P. 450–476.
8. Bauman D. E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. *Domestic Animals Endocrinology*. 1999. V. 17. P. 101–116.
9. Емельянов А. С. Лактационная деятельность коров и управление ею. Вологда-Молочное, 1953. 256 с.
10. Fedotova N. V., Lozovaya G. S. Evaluation of milk productivity of cows using DNA analysis of growth hormone and the number of somatic cells in milk. *The Herald of Altai state agrarian university*. 2011. № 7 (81). P. 60–63.
11. Тюлькин С. В., Ахметов Т. М., Валиуллина Э. Ф., Вафин Р. Р. Полиморфизм по генам соматотропина, пролактина, лептина, тиреоглобулина быков-производителей. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012. Т. 16, N. 4/2. С. 1008–1012.
12. Li Zhou G., Jin H. G., Liu C. Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. *J. Biosci.* 2005. V. 30. P. 595–598. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02703558>
13. Долматова И. Ю., Валитов Ф. Р. Оценка генетического потенциала крупного рогатого скота по маркерным генам. *Вестник Бакинского университета*. 2015. Т. 20. № 3. С. 850–853.
14. Amiri S., Jemmali B., Ferchichi M. A., Jeljeli H., Boulbaba R., Ben Gara A. Assessment of growth hormone gene polymorphism effects on reproductive traits in Holstein dairy cattle in Tunisia. *Arch Anim Breed.* 2018. V. 61(4). P. 481–489. Published 2018 Dec. 19. DOI:10.5194/aab-61-481-2018.
15. Lechniak D., Strabel T., Przybyla D., Machnik G., Switonski M. GH and CSN3 gene polymorphisms and their impact on milk traits in cattle. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 2002. V. 11. P. 39 – 45.
16. Gubarenko N. Y. Evaluation of milk productivity of cows using genetic markers. *Theoretical and applied veterinary medicine*. 2020. V. 8(2). P. 163–170. DOI: <https://doi.org/10.32819/2020.82023>

REFERENCES

1. Krasnopiorova, N., L. Baltrėnaitė, and I. Miceikien. 2012. Growth hormone gene polymorphism and its influence on milk traits in cattle bred in Lithuania. *Veterinarija ir zootechnika*. 58(80):42–46 (in English).
2. Bauman, D. E. 1992. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J. Dairy Sci.* 75:3432–3451 (in English).
3. Sejrsen, K., J. Foldager, M. T. Sorensen, R. M. Akem, and D. E. Bauman. 1986. Effect of exogenous bovine somatotropin on pubertal mammary development in heifers. *J. Dairy Sci.* 69:1528–1535 (in English).
4. Breier, B. H., and P. D. Giuckman. 1991. The regulation of postnatal growth: nutritional influences on endocrine pathways and function of the somatotrophic axis. *Livst. Prod. Sci.* 27:77–94 (in English).
5. Bialock, J. E. 1994. The syntax of immuno-neuroendocrine communication. *Immun. today*. 115:504–511 (in English).
6. Hediger, R., S. E. Johnson, W. Barendse, R. E. Drinkwater, S. S. Moore, and J. Hetzel. 1990. Assignment of the GH gene locus to 19q26qter in cattle and to 11q25qter in sheep by in situ hybridization. *Genomics*. 8:171–174 (in English).

7. Grochowska, R., L. Sorensen, L. Zwierzchowski, M. Snochowski, and P. Lovendahl. 2001. Genetic variation in stimulated GH release and in IGF-I of young dairy cattle and their associations with the leucine/valine polymorphism in the GH gene. *J. Anim. Sci.* 79:450–476 (in English).
8. Bauman, D. E. 1999. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. *Domestic Animals Endocrinology.* 17:101–116 (in English).
9. Jemeljanov, A. S. 1953. Laktatsionnaya deyatelnost korov i upravlenie eyu – Lactation activity of cows and its management. *Vologda-Molochnoe – Vologda-Dairy.* 256 (in Russian).
10. Fedotova, N. V., and G. S. Lozovaya. 2011. Evaluation of milk productivity of cows using DNA analysis of growth hormone and the number of somatic cells in milk. *The herald of Altai state agrarian university.* 7(81):60–63 (in English).
11. Tyulkin, S. V., T. M. Ahmetov, E. F. Valiullina, and R. R. Vafin. 2012. Polimorfizm po genam somatotropina, prolaktina, leptina, tireoglobulina byikov-proizvoditeley – Polymorphism in the genes of somatotropin, prolactin, leptin, thyroglobulin of bull-sires. *Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii – Vavilov journal of genetics and breeding.* 16(4/2):1008–1012 (in Russian).
12. Li Zhou, G., H. G. Jin, and C. Liu. 2005. Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. *J. Biosci.* 2005. 30:595–598 DOI:<https://doi.org/10.1007/BF02703558> (in English).
13. Dolmatova, I. Yu., and F. R. Valitov. 2015. Otsenka geneticheskogo potentsiala krupnogo rogatogo skota po markernym genam – Assessment of the genetic potential of cattle by marker genes. *Vestnik Bashkirskogo universiteta – Bulletin of the Bashkir university.* 20(3):850–853 (in Russian).
14. Amiri, S., B. Jemmali, M. A. Ferchichi, H. Jeljeli, R. Boulbaba, and A. Ben Gara. 2018. Assessment of growth hormone gene polymorphism effects on reproductive traits in Holstein dairy cattle in Tunisia. *Arch Anim Breed.* 61(4):481–489. DOI:10.5194/aab-61-481-2018 (in English).
15. Lechniak, D., T. Strabel, D. Przybyla, G. Machnik, and M. Switonski. 2002. GH and CSN3 gene polymorphisms and their impact on milk traits in cattle. *Journal of Animal and Feed Sciences.* 11:39–45 (in English).
16. Gubarenko, N. Y. 2020. Evaluation of milk productivity of cows using genetic markers. *Theoretical and applied veterinary medicine.* 8(2):163–170. DOI:<https://doi.org/10.32819/2020.82023> (in English).

Одержано редколегією 03.03.2021 р.

Прийнято до друку 26.04.2021 р.