

- genotypes. E3S WEB OF CONFERENCES. X International Conference on Advanced Agritechologies, Environmental Engineering and Sustainable Development (AGRITECH-X 2024). Том 548. Les Ulis. 2024.
<https://doi.org/10.1051/e3sconf/202454802017>
22. Konovalova E., Romanenkova O., Kostyunina O., Gladyr E. The molecular bases study of the inherited diseases for the health maintenance of the beef cattle // Genes. 2021. Т. 12. № 5. <https://doi.org/10.3390/genes12050678>
23. Konovalova E.N., Romanenkova O.S., Zimina A.A. et al. The genotyping results of the Russian cattle populations of Aberdeen Angus, Limousine, Simmental and Belgian Blue 3 breeds on F94L and nt821del11 mutations of the myostatin gene // Animals. 2021. № 11. PP. 1–13.
<https://doi.org/10.3390/ani11102810>
24. Konovalova E.N., Volkova V.V., Romanenkova O.S. Aberdeen Angus cattle breed in Russia: prevention of the genetic defects and evaluation of the risk of their spread by transferring from parents to offspring. В сборнике: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. 2019. P. 42008.
25. Li Y., Wang H., Yang Z. et al. Rapid Non-Destructive Detection Technology in the Field of Meat Tenderness: A Review. Foods. 2024. № 13. P. 1512.
<https://doi.org/10.3390/foods13101512>
26. Titanov Z., Kazhgaliyev N., Kulmagambetov T. et al. Adaptation of the Third Generation Aberdeen Angus Heifers in the North Kazakhstan Region // OnLine Journal of Biological Sciences. 2023. № 23 (2). PP. 133–141.
<https://doi.org/10.3844/ojbsci.2023.133.141>

Поступила в редакцию 02.09.2024

Принята к публикации 16.09.2024

УДК 636.082

DOI: 10.31857/S2500208225010138, EDN: CSFXHF

УСТАНОВЛЕНИЕ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЛЕПТИНА (САЙТ R25C) С ХОЗЯЙСТВЕННО ПОЛЕЗНЫМИ ПРИЗНАКАМИ*

Ирина Сергеевна Кожевникова, кандидат биологических наук
Наталья Александровна Худякова, кандидат сельскохозяйственных наук
Мария Сергеевна Калмыкова, младший научный сотрудник
Андрей Сергеевич Кашин, младший научный сотрудник

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова Уральского отделения Российской академии наук, г. Архангельск, Россия
 E-mail: labinnovrazv@yandex.ru

Аннотация. В статье представлены результаты действия генетических факторов на хозяйственно полезные признаки сельскохозяйственных животных. Установлена связь полиморфизма гена лептина (сайт R25C) с молочной продуктивностью, а также показателями живой массы в период роста и развития коров холмогорской породы. Исследование проводили на маточном поголовье крупного рогатого скота в АО «Холмогорский Племязавод». Анализ частоты встречаемости генотипов однонуклеотидного полиморфизма R25C у коров показал преобладание гетерозиготного генотипа RC (57,14%), при этом частота аллеля C составила 0,62, R – 0,38. Были получены данные по влиянию полиморфизма гена лептина (сайт R25C) на молочную продуктивность и развитие живой массы в разные возрастные периоды коров. Статистический анализ (Критерий Краскела-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни) не выявил достоверного действия однонуклеотидного полиморфизма R25C на показатели молочной продуктивности. Животные с генотипом RR характеризовались достоверно более высокой живой массой при рождении, в 18 мес. при первом осеменении, по сравнению с носителями других генотипов. Крупный розатый скот с генотипом RR имеет более длительный срок продуктивного использования. Полученные результаты свидетельствуют о том, что аллель R гена лептина положительно влияет на рост и развитие животных холмогорской породы. Данные закономерности могут быть использованы для повышения эффективности селекционно-племенной работы.

Ключевые слова: лептин R25C, живая масса, частота встречаемости, холмогорская порода

ASSOCIATING LEPTIN GENE POLYMORPHISM (SITE R25C) WITH ECONOMICALLY USEFUL TRAITS

I.S. Kozhevnikova, PhD in Biological Sciences
N.A. Khudyakova, PhD in Agricultural Sciences
M.S. Kalmykova, Junior Researcher
A.S. Kashin, Junior Researcher
FECIAR UrB RAS, Arkhangelsk, Russia
 E-mail: labinnovrazv@yandex.ru

* Статья подготовлена в рамках государственного задания Федерального исследовательского центра комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова Уральского отделения Российской академии наук «Молекулярно-генетическая оценка сельскохозяйственных животных по селекционным и хозяйственно-полезным признакам в условиях арктических и субарктических территорий РФ» (гос. № темы FUUW-2024-0006; № гос. регистрации темы – 124041000016-1). / The article was prepared as part of the state assignment of the Federal Research Center for Integrated Arctic Studies named after Academician N.P. Laverov of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences “Molecular genetic assessment of farm animals by breeding and economically useful characteristics in the Arctic and subarctic territories of the Russian Federation” (state. Topic No. FUUW-2024-0006; 124041000016-1).

Abstract. The establishment of the influence of genetic factors on economically useful traits is important for breeding and increasing the productivity of farm animals. The aim of the study was to establish a relationship between the polymorphism of the leptin gene (site R25C) with milk productivity and with live weight indicators during the growth and development of cows of the Kholmogorsky breed. The study was conducted on the breeding stock of cattle in JSC Kholmogorsky Stud Farm. The analysis of the frequency of occurrence of single nucleotide polymorphism R25C genotypes in Kholmogorsky cows showed the predominance of the heterozygous RC genotype (57.14%), while the frequency of the C allele was 0.62, and the R allele was 0.38. The results of the study of the effect of leptin gene polymorphism (site R25C) on milk productivity and on the development of live weight in different age periods of Kholmogorsky cows were also obtained. Statistical analysis (the Kraskel-Wallis criterion, the Mann-Whitney U-criterion) did not reveal a significant effect of the single nucleotide polymorphism R25C on milk productivity. Live weight analysis showed that animals with the RR genotype were characterized by significantly higher live weight at birth, at 18 months and at first insemination compared with carriers of other genotypes. In addition, cattle with the RR genotype have a longer period of productive use. The results obtained indicate that the R allele of the leptin gene has a positive effect on the growth and development of animals of the Kholmogorsky breed. The revealed patterns can be used to increase the efficiency of breeding work.

Keywords: leptin R25C, live weight, frequency of occurrence, Kholmogorsky breed

Гормон лептин играет главную роль в различных физиологических процессах, включая регуляцию аппетита, метаболизма, контроль массы тела, репродукцию и функционирование иммунной системы. У крупного рогатого скота ген LEP состоит из трех экзонов и двух интронов, занимая примерно 18,9 Кб. [8] Существует гипотеза, что точечные мутации в нуклеотидной последовательности этого гена могут модулировать функцию гормона лептина в контроле энергетического баланса. Нарушение энергетического обмена негативно влияет на продуктивность скота, потребление корма, накопление жировой ткани. Одну из точечных мутаций во втором экзоне гена лептина (LEP) — однонуклеотидный полиморфизм R25C, связанный с удоем, содержанием молочного белка, накоплением жировых отложений, можно рассматривать как перспективную альтернативу полиморфизмам гена β-казеина (CSN) — популярным объектам маркер-опосредованной селекции, результатом которой становится крупный рогатый скот, производящий молоко, долгосрочное потребление которого приводит к необратимой дисрегуляции многих физиологических процессов конечного потребителя. [4, 9, 11]

Цель работы — установить связь полиморфизма гена лептина (сайт R25C) с молочной продуктивностью и показателями живой массы в различные периоды роста и развития коров холмогорской породы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали маточное поголовье КРС холмогорской породы, содержащееся в АО «Холмогорский Племязавод» (n= 322). Кровь отбирали в вакуумные пробирки с КЗ ЭДТА. Экстракцию ДНК проводили при помощи набора реагентов «МагноПрайм ВЕТ» (ручная методика экстракции с центрифугированием).

Полиморфизм гена лептина определяли методом ПЦР-ПДРФ. Амплификацию ДНК осуществляли, ис-

пользуя набор для проведения ПЦР с HS-Taq (+MgCl₂) (ООО «Биолабмикс», Россия). Целевую последовательность лептина амплифицировали с применением прямого праймера (5'-CCAGGGAGTGCCTTTCATTA-3') и обратного (5'-GGTGTATCCTGGACCTTCC-3'). В таблице 1 представлен протокол температурных режимов циклов ПЦР.

Рестрикция проходила в присутствии эндонуклеазы Bsp13I (ООО «СибЭнзайм», Россия). Затем смесь инкубировали при 50°С в течение 19 ч. Для определения длин фрагментов ДНК, полученных в ходе рестрикции, осуществляли электрофоретическое разделение в 2%-м агарозном геле.

Связь между однонуклеотидным полиморфизмом R25C и хозяйственно полезными признаками оценивали статистическими методами. Полученные данные анализировали на предмет соответствия нормальному или ненормальному распределению. При ненормальном количественные данные описывали с помощью медианы (Me) и квартилей (Q1-Q3). Для сравнения всех групп использовали критерий Краскела-Уоллиса. Парные сравнения выполняли, применяя U-критерий Манна-Уитни с поправкой Бенджамини-Хохберга. Статистически значимыми считали различия между группами, где p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследовали частоту встречаемости гена LEP-R25C у коров холмогорской породы в стаде АО «Холмогорский племязавод» (табл. 2).

Анализ результатов тестирования выявил: генотип RR имеют 9,32% (30 гол.), RC — 57,14% (184 гол.), CC — 33,54% (108 гол.). Частота аллеля R составила 0,38, C — 0,62.

Определение генетического равновесия по закону Харди-Вайнберга с помощью критерия χ² показало смещение генетического равновесия в сторону аллеля С.

Преобладание аллеля С наблюдается и в некоторых других отечественных породах. Например, выявлено значительное доминирование аллеля С гена лептина, частота его встречаемости у коров красной степной породы — 0,80, голштинской — (0,56). [1, 6]

Доминирование аллеля установлено в голштинской, англеской, джерсейской и симментальской породах, только в айрширской преобладал аллель R. [2]

Был проведен анализ влияния однонуклеотидного полиморфизма R25C на молочную продуктивность КРС по последней законченной лактации у 322 животных, в том числе у 88 первотелок (табл. 3).

Значимых различий в показателях удоя, содержания жира и белка в молоке у животных с различными

Таблица 1.
Процедура амплификации с горячим стартом

Стадия	Температура, °С	Время инкубации	Количество циклов
Предварительная денатурация	94	2 мин.	1
Денатурация	94	20 с	29
Отжиг	62	20 с	
Элонгация	72	30 с	
Финальная элонгация	72	5 мин.	1

Таблица 2.

Частота встречаемости генотипов гена лептина у коров холмогорской породы

Количество голов, n	Тип распределения	RR		RC		CC		Частота аллелей		X ²
		n	%	n	%	n	%	R	C	
322	Наблюдаемое	30	9,32	184	57,14	108	33,54	0,38	0,62	14,76
	Ожидаемое	46	14,36	152	47,07	124	38,58			

Таблица 3.

Влияние однонуклеотидного полиморфизма R25C на молочную продуктивность скота, Ме (Q1;Q3)

Показатель	Генотип							
	Итого (n=322)				1 лактация (n=88)			
	RR (n=30)	RC (n=184)	CC (n=108)	p	RR (n=5)	RC (n=45)	CC (n=38)	p
Удой, кг	7493 (6508; 7972)	7207 (6220; 7915)	7262 (6561; 8006)	0,636	6242 (5737; 6926)	6499 (5880; 7415)	6889 (6056; 7456)	0,482
Жир, %	3,69 (3,24; 4,39)	3,79 (3,46; 4,20)	3,72 (3,42; 4,09)	0,633	3,68 (3,11; 4,42)	3,68 (3,44; 4,00)	3,80 (3,48; 3,94)	0,900
Белок, %	3,27 (3,16; 3,34)	3,27 (3,17; 3,42)	3,25 (3,13; 3,39)	0,520	3,25 (2,99; 3,55)	3,30 (3,13; 3,45)	3,27 (3,16; 3,38)	0,664

генотипами гена лептина не выявили. Критерий Краскала-Уоллиса показал, что полиморфизм R25C не оказывает достоверного влияния на молочную продуктивность у коров холмогорской породы, $p > 0,05$ во всех исследуемых группах.

Многие исследователи отмечают корреляцию между молочной продуктивностью и живой массой КРС из-за физиологических особенностей, позволяющих эффективнее усваивать и трансформировать питательные вещества в молоко. Но по достижению животного определенной массы повышение молочной продуктивности останавливается. [3, 5]

Учитывая, что однонуклеотидный полиморфизм R25C в работах других ученых показал высокую степень связи с ростом и увеличением живой массы тела, мы провели статистический анализ развития животных в разные возрастные периоды их жизни (табл. 4).

Коровы с генотипом RR имели наибольшую среднюю живую массу. Между группами особей с генотипом RC и CC существенных различий не выявлено. КРС в 18-месячном возрасте с генотипом RR достоверно отличался по живой массе от коров с генотипом CC. Наиболее высокое среднее значение живой массы составило 360 кг.

Есть данные, что крупный рогатый скот смешанной породы (европейское или британское происхождение), гомозиготный по аллелю R, имеет более высокую убойную массу. [7, 10] Наибольшая толщина подкожного жира у животных, гомозиготных по аллелю R. Однако живая масса выше у особей с генотипами RC и CC. [12]

Анализ живой массы коров при первом осеменении выявил достоверные различия между группами (табл. 5).

Животным с гетерозиготным генотипом RR (n=30) свойственна наибольшая средняя живая масса (366 кг). Статистически значимые отличия также наблюдали у особей с генотипами RC (n=184, 362 кг) и CC (n=108, 354 кг). Коровы с генотипом RR обладают максимальной живой массой при первом осеменении и достигают ее в возрасте 18 мес., имеют более длительный срок хозяйственного использования, по сравнению с другими генотипами.

Выводы. Установлено, что в стаде коров холмогорской породы АО «Холмогорский племязавод» преобладает аллель C гена лептина. Распределение генотипов по данному локусу характеризуется доминированием гетерозиготного генотипа RC.

Анализ влияния полиморфизма R25C гена лептина на живую массу показал, что коровы с генотипом

Таблица 4.

Показатели живой массы в разные возрастные периоды в зависимости от генотипов гена LEP (сайт R25C), Ме (Q1;Q3)

Генотип	n	Живая масса, кг				
		при рождении	6 мес.	10 мес.	12 мес.	18 мес.
RR	30	38 (35; 40)	145 (130;171)	216 (205; 257)	254 (233; 290)	360 (333; 392)*
RC	184	38 (34; 40)	147 (133; 163)	215 (198; 245)	253 (228; 281)	350 (327; 375)*
CC	108	38 (35; 40)	148 (135; 158)	215 (199; 240)	243 (223;269)	340 (311; 369)*

Примечание. * – различия достоверны при $P < 0,05$. То же в табл. 5.

Таблица 5.

Показатели живой массы и возраста коров в зависимости от генотипов гена LEP (сайт R25C), Ме (Q1;Q3)

Генотип	n	Живая масса при первом осеменении, кг	Возраст при первом осеменении, мес.	Возраст, мес.	Возраст, от.
RR	30	366 (347; 382)*	18 (17; 21)	80 (56; 91)	5 (3; 5)
RC	184	362 (341; 380)*	19 (17; 20)	58 (47; 73)	3 (2; 4)
CC	108	354 (337; 371)*	19 (18; 20)	57 (47; 68)	3 (2; 4)

RR имели достоверно более высокий показатель при рождении, в 18-месячном возрасте при первом осеменении, по сравнению с животными, несущими другие генотипы.

Таким образом, аллель R гена лептина положительно влияет на рост и развитие животных *холмогорской* породы. Данные закономерности могут быть использованы для повышения эффективности селекционно-племенной работы в скотоводстве.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ковалюк Н.В., Сацук В.Ф., Мачульская Е.В., Шахназарова Ю.Ю. Связь полиморфизма локусов R25C и A80V гена лептина с хозяйственно-ценными признаками у крупного рогатого скота голштинской породы // Сборник научных трудов СКНИИЖ. 2017. № 3.
2. Ковалюк, Н.В., Сацук В.Ф., Мачульская Е.В. Возможности улучшения айрширской породы прилитием крови других пород с позиции полиморфизма гена лептина // Молочное и мясное скотоводство. 2015. № 5. С. 28–30.
3. Кузякина Л.И. Влияние живой массы на молочную продуктивность и воспроизводительные функции коров-первотелок // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. 2022. № 25-2. С. 94–102.
4. Погодаев, С.Ф., Гаджиев А.М. Живая масса коров определяет потенциал удоев // Зоотехния. 2001. № 1. С. 29–31.
5. Чижова Л.Н., Кононова Л.В., Шарко Г.Н., Ковалёва Г.П. Полиморфизм гена лептина у коров молочного направления продуктивности // Сельскохозяйственный журнал. 2017. № 10. С. 113–117
6. Buchanan F.C., Fitzsimmons C.J., Van Kessel A.G. et al. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels // Genet Sel Evolution. 2002. Vol. 34(1). PP. 105–16
7. Ghoneim M.A., Ogaly H.A., Gouda E.M., El-Behairy A.M. Prediction of desirable genotype patterns in Baladi beef cattle and water buffalo by identification of new leptin gene SNPs // Livestock Science. 2016. Vol. 194. PP. 51–56
8. Hilmia N. et al. Single Nucleotide Polymorphism on Exon 2 Leptin Gene of Pasundan Cattle // Earth Environ. 2019.
9. Kononoff P.J., Deobald H.M., Stewart E.L. et al. The effect of a leptin single nucleotide polymorphism on quality grade, yield grade, and carcass weight of beef cattle // Journal of Animal Science. 2005. Vol. 83(4). PP. 927–932.
10. Radwell Laine T. Investigating the role of host genetics and genomics in beef cow efficiency: Thesis. 2023. PP. 131.

11. Woronuk G.N., Marquess F.L., James S.T. et al. Association of leptin genotypes with beef cattle characteristics // Anim Genet. 2012. Vol. 43(5). PP. 608–610.

REFERENCES

1. Kovalyuk N.V., Sacuk V.F., Machul'skaya E.V., Shahnazarova Yu.Yu. Svyaz' polimorfizma lokusov R25C i A80V gena leptina s hozyajstvenno-cennymi priznakami u krupnogo rogatogo skota golshhtinskoj porody // Sbornik nauchnyh trudov SKNIIZh. 2017. № 3.
2. Kovalyuk, N.V., Sacuk V.F., Machul'skaya E.V. Vozmozhnosti uluchsheniya ajrshirskoj porody prilitiem krvi drugih porod s pozicii polimorfizma gena leptina // Molochnoe i myasnoe skotovodstvo. 2015. № 5. S. 28–30.
3. Kuzyakina L.I. Vliyaniye zhivoj massy na molochnyuyu produktivnost' i vosproizvoditel'nye funkcii korov-pervotelok // Aktual'nye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva. 2022. № 25-2. S. 94–102.
4. Pogodaev, S.F., Gadzhiev A.M. Zhivaya massa korov opredelyaet potencial udoev // Zootekhniiya. 2001. № 1. S. 29–31.
5. Chizhova L.N., Kononova L.V., Sharko G.N., Kovalyova G.P. Polimorfizm gena leptina u korov molochnogo napravleniya produktivnosti // Sel'skokozyajstvennyy zhurnal. 2017. № 10. S. 113–117
6. Buchanan F.C., Fitzsimmons C.J., Van Kessel A.G. et al. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels // Genet Sel Evolution. 2002. Vol. 34(1). PP. 105–16
7. Ghoneim M.A., Ogaly H.A., Gouda E.M., El-Behairy A.M. Prediction of desirable genotype patterns in Baladi beef cattle and water buffalo by identification of new leptin gene SNPs // Livestock Science. 2016. Vol. 194. PP. 51–56
8. Hilmia N. et al. Single Nucleotide Polymorphism on Exon 2 Leptin Gene of Pasundan Cattle // Earth Environ. 2019.
9. Kononoff P.J., Deobald H.M., Stewart E.L. et al. The effect of a leptin single nucleotide polymorphism on quality grade, yield grade, and carcass weight of beef cattle // Journal of Animal Science. 2005. Vol. 83(4). PP. 927–932.
10. Radwell Laine T. Investigating the role of host genetics and genomics in beef cow efficiency: Thesis. 2023. PP. 131.
11. Woronuk G.N., Marquess F.L., James S.T. et al. Association of leptin genotypes with beef cattle characteristics // Anim Genet. 2012. Vol. 43(5). PP. 608–610.

Поступила в редакцию 27.11.2024

Принята к публикации 11.12.2024