

УДК 636:2:4.082

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ДЕФЕКТА ДЕФИЦИТА
ХОЛЕСТЕРИНА В ПОПУЛЯЦИИ РЕМОУНТОГО МОЛОДНЯКА
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ,
РАЗВОДИМОГО В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Е. И. Юрченко, О. А. Епишко, О. В. Вертинская

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,

г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: elurch1986@mail.ru)

Ключевые слова: голштинская порода, гаплотипы фертильности, дефицит холестерина HCD.

Аннотация. ДНК-тестирование ремонтного молодняка на наличие мутации дефицита холестерина в раннем возрасте позволит выявить скрытых носителей в гетерозиготном состоянии и не допустить распространение наследственных заболеваний в популяциях крупного рогатого скота, а тестирование быков-производителей и быкопроизводящих коров – исключить получение особей на стадии эмбрионального развития. Данные мероприятия позволят оздоровить племенное поголовье республики.

IDENTIFICATION OF CHOLESTEROL DEFICIENCY IN THE
POPULATION OF CATTLE BREEDED IN THE REPUBLIC OF
BELARUS

E. I. Urchenko, O. A. Epishko, O. V. Vertinskaya

EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28

Tereshkova st.; e-mail: elurch1986@mail.ru)

Key words: holstein breed, fertility haplotypes, HCD cholesterol deficiency.

Summary. The article presents the results of a study of the genetic structure of the population of cattle bred in the Republic of Belarus in order to exclude the spread of cholesterol deficiency. DNA testing of replacement calves for the presence of this mutation at an early age will make it possible to identify hidden carriers in a heterozygous state and prevent the spread of hereditary diseases in cattle populations, and testing bulls and bull-producing cows will exclude obtaining individuals at the stage of embryonic development. These measures will improve the health of the breeding stock of the Republic.

Введение. По мере увеличения мирового населения растет спрос на необходимые человеку продукты питания животного происхождения, такие как яйца, мясо и молоко. Молоко имеет большое значение

из-за своей высокой питательной ценности. Для удовлетворения спроса на молоко и молочные продукты необходимо применять соответствующие стратегии отбора и разведения животных. Благодаря достижениям в области геномных технологий, можно точно оценить потенциал животного при рождении и ускорить получение генетических результатов для повышения продуктивности. В селекции молочного скота во всем мире в последние годы был сделан акцент на выведении здоровых и плодовитых животных, способных в условиях промышленной технологии начинать лактацию в более раннем возрасте без негативных последствий для репродуктивной системы.

Современное развитие животноводства базируется на внедрении передовых технологий, постоянном углублении и совершенствовании знаний и навыков эффективной работы. Методы классической селекции не справляются с возложенными задачами интенсификации производства, что стимулирует поиск решений поставленных задач. Одним из таких решений является исследование молекулярно-генетических маркеров, отрицательно влияющих на ряд хозяйственно полезных признаков. Снижение фертильности поголовья голштинского скота связано с многими причинами, одной из которых является накопление в популяции генетических дефектов в гомозиготном состоянии. Интенсивное использование искусственного осеменения быками-скрытыми носителями мутаций привело к накоплению в популяции крупного рогатого скота различного рода Lof-мутаций. Четвертая часть потомства от таких родителей погибает еще на эмбриональной стадии развития или рождается с дефектами, несовместимыми с жизнью [8]. На практике результатом негативного действия гаплотипов фертильности являются удлинение сервис-периода, увеличение числа осеменений на одну стельность, аборт, возрастание межотельного периода и удлинение лактации. Многие ученые предполагают, что практически каждое животное является носителем того или иного нежелательного гаплотипа фертильности.

В США с 2003 года разработана и внедрена программа генетической оценки фертильности коров (DPR-индекс стельности или оплодотворяемости дочерей), которая включает в себя оценку таких признаков, как продуктивная жизнь (PL), оплодотворяемость телок (HCR) и оплодотворяемость коров (CCR). Данная программа позволила остановить тенденцию снижения плодовитости коров голштинской породы. Мониторинг поголовья поможет обеспечить генетическую безопасность племенного материала крупного рогатого скота.

Дефицит холестерина (HCD – haplotypecholesteroldeficiency) – новый летальный генетический дефект голштинского скота, ассоцииро-

ванный с гибелью телят в первые недели или месяцы жизни. Данный дефект был идентифицирован в немецкой популяции голштинского скота и впервые представлен на конференции Interbull в июле 2015 года. В январе 2016 года швейцарской научной группой была идентифицирована мутация (инсерция размером 1,3 kb) в гене аполипопротеина В (АРОВ), ассоциированная с летальным генотипом, и прослежено ее происхождение от известного быка-производителя канадского происхождения CAN000005457798 Mauglin STORM (1991 г. р.).

У гомозиготных носителей данной мутации происходит нарушение в метаболизме холестерина, что приводит к физической слабости, потере веса, аппетита, идиопатической диарее, не поддающейся лечению, обезвоживанию, низкому уровню жирорастворимых витаминов А и Е, гипокалиемии, лейкоцитозу, кахексии и пониженному уровню гемоглобина и, как следствие, к гибели телят в первые недели или месяцы жизни [7]. Гетерозиготные носители НСД имеют низкие показатели холестерина в сыворотке крови, нарушения жирового обмена и, как следствие, значительно отстают в развитии [6]. Было установлено, что гетерозиготные животные имеют пониженное содержание холестерина в крови, в то время как у гомозиготных животных холестерин в крови вообще отсутствует. Новый гаплотип получил название гаплотипа дефицита холестерина – НСД [1]. По данным литературных источников, частота встречаемости скрытых носителей НСД составляет от 6 до 17 %. Тестирование быков голштинской породы на предмет носительства гаплотипа НСД за рубежом является обязательным [9].

Группой ученых установлено, что причиной НСД является инсерция мобильного LTR элемента (ERV2-1), размером 1299 bp, после позиции 77 958 994 на ВТА 11, расположенная между нуклеотидами 24 и 25 экзона 5 гена АРОВ. Инсерция обуславливает сдвиг рамки считывания, начиная от аминокислоты 135 АРОВ, и приводит к отсечению 97 % соответствующего белка, длиной 4567 аминокислот (Gly135ValfsX10). АРОВ занимает центральное место в системе аполипопротеинов и является обязательным компонентом липопротеинов низкой плотности и хиломикрон [2]. С. Charlier подтвердил локализацию мутации, при этом указал, что полный размер инсерции эндогенного ретровирусного элемента (ВоERV) составляет около 7 kb [3].

Необходимость проведения массового тестирования племенного поголовья голштинского и голштинизированного скота в Республике Беларусь на наличие НСД обусловлена наследованием мутантного аллеля как по отцовской, так и по материнской линии. Тестирование гаплотипа НСД необходимо проводить не только у производителей, но и у коров, что позволит снизить вероятность появления гомозиготных

потомков и избежать экономических потерь [5]. На сегодняшний день в Республике Беларусь тестирование быков-производителей и ремонтного молодняка голштинской породы на предмет носительства гаплотипа HCD является обязательным. При подборе родительских пар необходимо учитывать статус по HCD быка и быкопроизводящей коровы.

По данным зарубежных авторов, животные – гетерозиготные носители – отличаются низкими темпами прироста живой массы в сравнении со сверстниками, а следовательно, позже достигают сроков первого осеменения [6].

В гетерозиготном состоянии носители большинства аномалий фенотипически ничем не отличаются от здоровых животных, но четверть потомства, полученного от таких родителей, гибнет еще на эмбриональной стадии или рождается с дефектами, не совместимыми с жизнью, значительно ухудшая показатели воспроизводства. Гибель эмбрионов на поздних сроках стельности негативно сказывается на репродуктивном здоровье, приводя к развитию патологий репродуктивной системы.

Цель наших исследований – изучить частоту встречаемости мутации дефицита холестерина в популяции ремонтного молодняка голштинской породы крупного рогатого скота, разводимого в Республике Беларусь, с целью исключения распространения мутации дефицита холестерина.

Материал и методика исследований.

Генотипирование крупного рогатого скота по выявлению дефицита холестерина (HCD) проводилось на базе отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» УО «Гродненский государственный аграрный университет».

В качестве биологического материала для выделения ДНК использовали ушной выщип ремонтного молодняка голштинской породы, содержащегося в племенных хозяйствах Гродненской, Брестской и Минской областей (n = 344). Выделение ядерной ДНК проводили перхлоратным методом. Основные растворы для выделения ДНК готовили по Т. Маниатису [4].

Диагностику гаплотипа HCD проводили с использованием следующих праймеров и программы.

Олигонуклеотидная последовательность для определения мутации в гене APOB:

- 1 – for – GCTGCAAAGCCACCTAGCCT;
- 2 – aff – AAATGCTCGAGAATATCCGGGG;
- 3 – N – GCAGCTGAGCCCACGATCCA.

ПЦР-программа HCD: «горячий старт» – 7 мин при 95 °С; 35 циклов: денатурация – 30 с при 94 °С, отжиг – 30 с при 68 °С, синтез – 30 с при 72 °С; достройка – 7 мин при 72 °С.

Состав реакционной смеси: общий объем реакционной смеси 15 мкл: 14,5 мкл амплификационной смеси + 0,5 мкл ДНК., 0,25 мкл – MgCl₂; 0,2 мкл – dNTP; 2мкл – буфера; 15 пмоль каждого праймера; 1 UТaq-полимеразы, 11,35мкл – Н₂О.

Концентрацию и специфичность амплификата оценивали электрофоретическим методом в 2%-м агарозном геле (при напряжении 110-130 В). Длина амплифицированного фрагмента – 327 п. н.

При расщеплении продуктов амплификации могут идентифицироваться следующие генотипы:

- NN – 327 п. н. (свободный от мутации);
- AN – 327/215 п. н. (носитель мутации);
- AA – 215 п. н. (летальный).

Генотипирование исследуемого поголовья показало генотипы, представленные на электрофореграмме (рисунок).

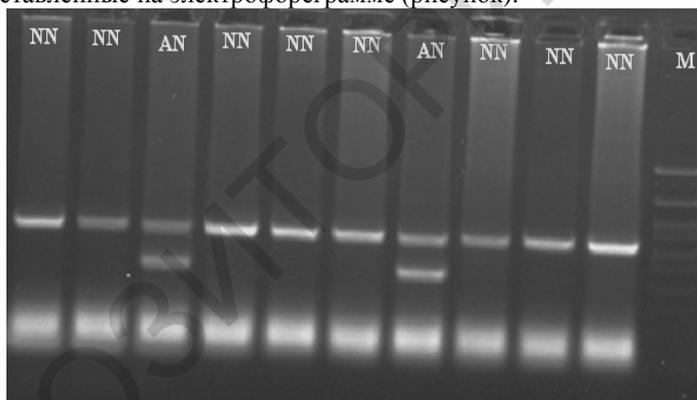


Рисунок – Электрофореграмма гена АРОВ, М – маркер молекулярного веса, 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10 – свободные от мутации (NN); 3, 7 – носитель мутации (AN)

Международная отметка в родословной племенных животных мутации, ассоциированной с гаплотипом фертильности HCD: 1 % – свободный от мутации, 50 % – носитель мутации.

Результаты исследований и их обсуждение.

Определение полиморфизма в гене АРОВ было протестировано на выборке племенного поголовья в количестве 344 голов ремонтного молодняка крупного рогатого скота. По результатам исследований было выявлено наличие 5 животных с генотипом AN (скрытые носители

HCD). Частота встречаемости аллелей генотипов дефицита холестерина представлена в таблице.

Таблица – Частота встречаемости аллелей генотипов в гене АРОВ

Количество животных	Частота встречаемости				
	аллелей		генотипов, %		
	A	N	NN	AN	AA
344	0,019	0,981	98,5	1,5	—

Из данных таблицы видно, что в процессе проведения исследования были выявлены различия по частоте встречаемости генотипов и аллелей гена АРОВ. В исследуемой популяции животных самая высокая частота встречаемости была выявлена у генотипа NN – 98,5 %, тогда как частота встречаемости генотипа AN составила 1,5 %. Животные с генотипом AA в исследуемой популяции не выявлены.

Частота встречаемости аллеля N гена АРОВ составила 0,981, а встречаемость аллеля А – 0,019.

Заключение. Таким образом, ДНК-тестирование ремонтного молодняка на наличие мутаций в раннем возрасте позволит выявить скрытых носителей в гетерозиготном состоянии и не допустить распространение наследственных заболеваний в популяциях крупного рогатого скота, а тестирование быков-производителей и быкопроизводящих коров – исключить получение особей на стадии эмбрионального развития. Данные мероприятия позволят оздоровить племенное поголовье Республики Беларусь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дефицит холестерина – новый рецессивный генетический дефект голштинского скота / Н. А. Зиновьева [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. – № 2. – 2016. – С. 5-7.
2. A transposable element insertion in APOB causes cholesterol deficiency in Holstein cattle / F. Menzi [et al] // Anim. Genet., doi: 10.1111/age.12410.
3. Charlier, C. The role of mobile genetic elements in the bovine genome / C. Charlier // Plant Anim. Genome XXIV Conf., 2016. abstr. W636.
4. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук. – М.: «Мир», 1984. – 480 с.
5. Позовникова, М. В. Оценка встречаемости генетического дефекта HCD в стадах голштинского скота северо-западного региона / М. В. Позовникова, О. В. Митрофанова, Н. В. Дементьева // Известия нижевожского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – № 2 (58). – 2020. – С. 265-271.
6. Лихачева, Т. Е. Влияние гаплотипа «дефицит холестерина» (HCD) на интенсивность прироста живой массы телок голштинской породы / Т. Е. Лихачева, М. В. Позовникова // Изв. Оренбургского гос. аграрного ун-та. – 2019. – № 1(75). – С. 166-168.
7. Позовникова, М. В. Живая масса и уровень холестерина в сыворотке крови телят с генетической мутацией в гене АРОВ / М. В. Позовникова // Материалы ежегодной международной научной конференции. Отв. редактор Т. В. Седлецкая. – Издательство: Ленинградский государственный университет имени А. С. Пушкина, 2020 – С. 8-10.
8. Ковалюк, Н. В. Генетические аномалии крупного рогатого скота / Н. В. Ковалюк [и др.] // Сборник научных трудов краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – Том 7. – № 1. – 2018. – С. 27-32.

9. Cole, J. B. Symposium review: Possibilities in an age of genomics: The future of selection indices / J. B. Cole, P. M. VanRaden // J. Dairy Sci. – 2018. – Volume 101 (4). – P. 3686-3701. doi: 10.3168/jds.2017-13335.

УДК 636.22/28 : 612.664

ВЛИЯНИЕ ПОДГОТОВКИ НЕТЕЛЕЙ К ЛАКТАЦИИ НА ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА ПЕРВОТЕЛОК

О. И. Якшук

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

Ключевые слова: нетели, первотелки, массаж вымени, молочная продуктивность, воспроизводительные качества.

Аннотация. Установлено, что ручной массаж вымени нетелей в течение 4-5 минут с 7-месячной стельности оказал положительное влияние на молочную продуктивность коров-первотелок, при этом суточный удой у них за период раздоя был выше на 2,9 кг и составил 26,0 кг, а удой за 90 дней лактации – 2340 кг, что больше, по сравнению с контролем, на 270 кг. Удой коров-первотелок за лактацию у опытной группы составил 6589 кг, что на 600 кг больше, чем у сверстниц контрольной группы. Массаж вымени у нетелей способствует увеличению скорости молокоотдачи у коров-первотелок на 0,22 кг/мин и сокращению продолжительности выдаивания коров на 0,8 минут, способствует повышению оплодотворяемости на 8 п. и и сокращению сервис-периода на 18 дней.

INFLUENCE OF PREPARATION OF HEIFERS FOR LACTATION ON THE PRODUCTIVE QUALITIES OF FIRST-CALF COWS

O. I. Yakshuk

EI «Grodno state agrarian university»
Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28
Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

Key words: heifers, first-calf cows, udder massage, milk productivity, reproductive qualities.

Summary. It was found that manual massage of the udder of heifers for 4-5 minutes from 7 months of pregnancy had a positive effect on the milk productivity of first-calf cows, while their daily milk yield during the period of milking was higher by 2,9 kg and amounted to 26,0 kg, and the milk yield for 90 days of lactation was 2340 kg, which is more, compared to the control by 270 kg. The milk yield of first-calf cows for lactation in the experimental group was 6589 kg, which is 600 kg more