

УДК 636:2:4.082

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО ГЕНУ LEP

Е. А. Манцевич, О. А. Епишко

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail:
ggau@ggau.by)

Ключевые слова: полиморфизм, ген, ПЦР-ПДРФ, LEP.

Аннотация. Основными ресурсами в обеспечении экономической эффективности сельскохозяйственной отрасли, производства продуктов животноводства, создания прогрессивных технологий содержания является увеличение продуктивных качеств пород животных, повышение генетического потенциала и рациональное его использование. Существенное влияние на качественные характеристики животноводческой продукции оказывают особенности жирового обмена животных, направление и интенсивность липидного метаболизма. В качестве позиционного и функционального гена-кандидата, связанного с липидным обменом, а также с качеством мяса, рассматривается ген LEP. Изучен полиморфизм гена LEP у Herefordской породы крупного рогатого скота методом ПЦР-ПДРФ-анализа.

GENOTYPING CATTLE BY LEP GENE

E. A. Mantsevich, O. A. Epishko

EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus

(Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail:
ggau@ggau.by)

Key words: polymorphism, gene, PCR- RFLP, LEP

Summar. The main resources in ensuring the economic efficiency of the agricultural industry, the production of livestock products, the creation of advanced technologies of maintenance, is to increase the productive qualities of animal breeds, increase genetic potential and its rational use. Essential influence on the quality characteristics of livestock products have features of fat metabolism of animals, the direction and intensity of lipid metabolism. The LEP gene is considered as a positional and functional candidate gene associated with lipid metabolism, as well as meat quality. The polymorphism of the LEP gene in the Hereford cattle breed was studied by PCR-RFLP analysis.

(Поступила в редакцию 03.06.2019 г.)

Введение. Для Республики Беларусь высокоразвитое животноводство является основой для обеспечения продовольственной безопасно-

сти страны [1]. Об этом свидетельствует опыт большинства стран, где по мере роста продуктивности численность молочного скота снижалась, а его место занимал скот мясного направления. К сведению, в США 90% говядины производится за счет мясного скота. В 12 ведущих странах Европы с 1988 по 1999 гг. численность молочного поголовья сократилась на 4,1, а мясное стадо возросло на 3,9 млн. голов. Наиболее крупные мясные стада сосредоточены во Франции, Великобритании, Испании и Ирландии, резко повысилась численность мясного скота в Германии [2, 3].

Основными ресурсами в обеспечении экономической эффективности сельскохозяйственной отрасли, производства продуктов животноводства, создания прогрессивных технологий содержания является увеличение продуктивных качеств пород животных, повышение генетического потенциала и рациональное его использование [1].

Маркерная селекция – это программа генетического усовершенствования животных, которая включает в себя использование информации о результатах тестирования маркерных генов селекционно-значимых локусов количественных признаков, она наиболее оправдана в дополнение к традиционной селекции. [4].

Основным направлением маркерной селекции сельскохозяйственных животных является разработка методов оценки генотипов по маркерным локусам, для увеличения эффективности раннего отбора лучших животных в популяции [5, 6]. Существенное влияние на качественные характеристики животноводческой продукции оказывают особенности жирового обмена животных, направление и интенсивность липидного метаболизма.

Одним из эффективных методов оценки направления и интенсивности липидного обмена животных, а также проведения отбора животных по данным признакам является использование ДНК-маркеров [7].

Поиск генов-кандидатов липидного обмена животных, а также разработка технологии их генотипирования и изучение влияния полиморфных вариантов таких генов на показатели липидного обмена животных является актуальной задачей современной животноводческой науки.

В качестве позиционного и функционального гена-кандидата, связанного с липидным обменом, а также с качеством мяса, рассматривается ген лептин (LEP). Лептин – 16-kDa-гормональный продукт гена тучности, участвующий в контроле питания, расхода энергии, регулировании массы тела крупного рогатого скота, воспроизводства и определенных функций иммунной системы [8]. LEP синтезируется в основ-

ном в адипоцитах, при увеличении массы тела возрастает его периферийная концентрация [9].

Были проведены исследования полиморфизма гена LEP в пяти генетических линиях коммерческого мясного скота. Было установлено, что гомозиготные по аллелю Т особи отличаются более высоким потреблением корма, в то время как животные, гомозиготные по аллелю С, характеризуются пониженным потреблением корма. Показано превосходство животных, несущих генотип ТТ, в толщине шпика, а также в содержании жира в туше, подкожного жира в поясничном отделе и в области грудины [10].

Использование генов-кандидатов позволяет изучать, контролировать и прогнозировать особо значимые параметры у животных. К таким генам относится ген лептин.

Цель работы – изучить полиморфизм гена LEP у герефордской породы крупного рогатого скота Беларуси.

Материал и методика исследований. Исследования проводились на базе отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» УО «Гродненский государственный аграрный университет». В качестве объекта исследований использовали крупный рогатый скот герефордской породы, содержащийся в РСУП «Гродненское племпредприятие» и СПК им. Деньщикова Гродненской области. Для изучения полиморфизма гена LEP провели генотипирование животных по адаптированной методике с некоторыми изменениями и модификациями методом ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) анализа.

В качестве материала для исследований использовали биологический материал в виде эпителиальной ткани (ушной выщип). Выделение нуклеиновых кислот проводили с помощью перхлоратного метода.

Для проведения амплификации гена LEP использовали праймеры:

LEP – F: 5' ATG CGC TGT GGA CCC CTG TAT C 3',

LEP – R: 5' TGG TGT CFT CCT GGA CCT TCC 3'.

ПЦР-анализ выполняли согласно протоколу, представленному в таблице 1.

Таблица 1 – Компоненты ПЦР-реакции гена LEP

Реагенты	Концентрация на 1 пробу
dH ₂ O	До 25 мкл
dNTP	2,0 мМ
MgCl ₂	2,5 мМ
Буфер	10-х
Таg-полимераза	1 е.а.
LEP – 1	25 пМ
LEP – 2	25 пМ
Проба ДНК	100-200 нг

Режим проведения ПЦР для гена LEP: «Горячий старт» – 5 мин при 94⁰С, 35 циклов: денатурация – 45 с при 94⁰С, отжиг – 45 с при 58⁰С, синтез – 45 с при 72⁰С, достройка – 10 мин при 72⁰С. Продукт амплификации разделяли в 3% агарозном геле в течение 60 мин, используя напряжение 120V.

ПЦР-продукт:

Генотип СС = 94

Генотип ТТ = 75, 19

Генотип ТС = 94, 75, 19 (рисунок).

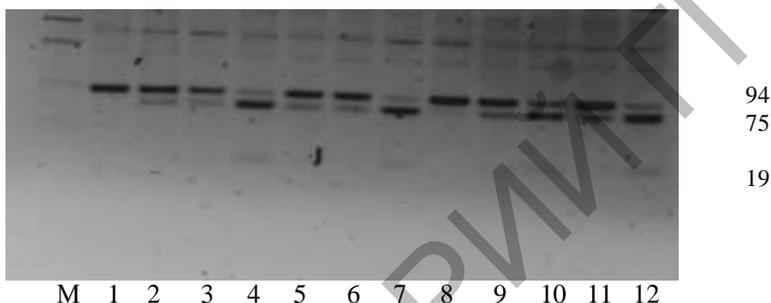


Рисунок – Электрофореграмма технического результата предложенного способа определения гена лептина (LEP) у крупного рогатого скота мясного направления

Примечание – Обозначения: М – ДНК-маркер 100bp (ОДО «Праймтех», Беларусь); 4, 7, 12 – генотип ТТ; 1, 8 – генотип СС; 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11 – генотип ТС.

Для анализа аллельных вариантов гена LEP продукт амплификации обрабатывали рестриктазой Bsp13I. Рестрикцию проводили в термостате на протяжении 5 ч при температуре 55⁰С. Разделение продуктов рестрикции проводили в 3% агарозном геле.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенных исследований можно анализировать генетическую структуру популяции, оценить протекающие в ней селекционно-значимые процессы. Нами был изучен генетический полиморфизм у крупного рогатого скота герефордской породы, содержащийся в РСУП «Гродненское племпредприятие» и СПК им. Деньщикова Гродненской области. Выявлен полиморфизм гена LEP у крупного рогатого скота герефордской породы методом ПЦР-ПДРФ-анализа.

Анализ полиморфизма по гену LEP крупного рогатого скота герефордской породы представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Генетическая структура популяции крупного рогатого скота герефордской породы, содержащегося в РСУП «Гродненское племпредприятие» и СПК им. Деньщикова

Порода	Частота встречаемости					χ^2
	аллелей		генотипов, %			
	LEP ^C	LEP ^T	LEP ^{CC}	LEP ^{TC}	LEP ^{TT}	
Герефордская (n=104)	0,57	0,43	31,7	50,0	18,3	0,042

Анализ полиморфизма по гену LEP крупного рогатого скота герефордской породы выявил наличие генотипов LEP^{CC} – 31,7%, LEP^{TT} – 18,3%, LEP^{TC} – 50%. Частота встречаемости аллелей LEP^C и LEP^T составила 0,57 и 0,43 соответственно. При этом в популяции выявлено нарушение генетического равновесия ($P < 0,05$), что связано с проведением преимущественной селекции данной породы на увеличение мясной продуктивности.

Вывод. Таким образом, исследование полиморфизма гена лептина у герефордской породы уже сегодня позволяет вести еще более целенаправленную селекцию на повышение генетического потенциала и увеличение продуктивных качеств пород животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амерханов, Х. Производство говядины и пути его увеличения в России / Х. Амерханов // Молоч. и мясн. скотоводство. – 2003. – № 6. – С. 3-10.
2. Данкверт, С. А. Производство и мировой рынок мяса в начале XXI века / С. А. Данкверт, И. М. Дунин // Обзорная информация. – М.: Издательство ВНИИ плем., 2002. – 111 с.
3. Заседание круглого стола на тему: «Развитие отрасли мясного скотоводства в республике: создание условий для производства конкурентной продукции» // Общественный пресс-центр ДОМА ПРЕССЫ [Электронный ресурс]. – 2009. – Режим доступа: <http://www.public-pc.com/index.php?point=10&part=8&d=1248183496>. – Дата доступа: 06.05.2019.
4. Dekkers, J. C. M. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons / J. C. M. Dekkers // J. Anim. Sci. – 2004. Vol. 82 (E. Suppl.). – P. 313-328.
5. Яковлев, А. Ф. Значительное повышение точности оценки племенной ценности животных в молочном скотоводстве // А. Ф. Яковлев, М. Г. Смарагдов / Зоотехния. – 2011. № 5. – С. 2-4.
6. Герасименко, В. В. Некоторые актуальные вопросы маркерной селекции в животноводстве // В. В. Герасименко. – С. 201-215.
7. Зиновьева, Н. А. Проблемы биотехнологии и селекции сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева. – Дубровицы, ВИЖ. – 2004. – С. 316.
8. Friedman, J. M. Leptin and the regulation of body weight in mammals / J. M. Friedman, J. L. Halaas // Nature. – 1998. – Vol. 395. – P. 763-770.
9. Hossner, K. L. Cellular, molecular and physiological aspects of leptin: Potential application in animal production / K. L. Hossner // Can. J. Anim. Sci. – 1998. – Vol. 78. – P. 463-472.
10. Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit / J. D. Nkrumah [et al.] // Journal of Animal Science. – 2005. – Vol. 83 (1). – P. 20-28.