

# Вплив генотипів за генами GH і PIT-1 на молочність голштинських корів



**Анотація.** Досліджено вплив поліморфізму генів гормону росту GH та гіпофізарно-специфічного фактора транскрипції PIT-1 на показники молочної продуктивності голштинських корів. Встановлено, що тварини генотипу LL за геном GH та генотипу AB за геном PIT-1 мають більший надій, вихід молочної жиру та білка ( $P > 0,95 - 0,999$ ). Парні комбінації генів GH та PIT-1 мають поліпшуючий ефект основних показників молочної продуктивності, який значно переважає індивідуальний вплив поліморфізмів. Крайцем виявився комплексний генотип LL/AB.

**Ключові слова:** голштинська худоба, ген GH, ген PIT-1, генотип, молочна продуктивність, частка впливу, співвідносна мінливість.

**Influence of genotypes for genes GH and PIT-1 in milk production of Holstein cows.** ALEXANDR N. CHERNENKO, NATALIA Y. GUBARENKO

**Abstract.** The influence of gene polymorphism of growth hormone GH and pituitary-specific transcription factor PIT-1 rate on milk production of Holstein cows. It is established that the genotype of the animal by LL genotype AB and GH for PIT-1 gene have higher yield of milk, the yield of milk fat and protein ( $P > 0,95 - 0,999$ ). Paired combinations of genes GH and PIT-1 have the effect of enhancing main indicators of milk production, which significantly the individual polymorphisms. The best was a complex genotype LL/AB.

**Key words:** holstein cattle, GH gene, PIT-1 gene, genotype, milk productivity, share of voice, correlative changeability.

**О. ЧЕРНЕНКО**, канд. с.-г. наук, доцент  
**Н. ГУБАРЕНКО**, аспірант  
Дніпропетровський державний  
аграрно-економічний університет

Рецензенти: докт. с.-г. наук **В. С. КОЗИРЬ**, канд. с.-г. наук  
**О.В. Денисюк** ДУ «Інститут сільського господарства  
степової зони НААН»

На сучасному етапі вдосконалення порід сільськогосподарських тварин використовують як традиційні методи відбору, так і методи з використанням маркер-допоміжної селекції (Marker-assisted selection – MAS), що забезпечує формування масивів тварин з бажаними алельними варіантами генів за показниками продуктивності та стійкості до захворювань [3]. У зв'язку з цим, актуальним є завдан-

ня впровадження в тваринництво маркер-допоміжної селекції, що дає змогу підвищити точність оцінки генетичного потенціалу тварин, і, як наслідок, збільшити економічну ефективність [4].

Молочна продуктивність є складною кількісною ознакою, яка контролюється великою кількістю генетичних локусів (Quantitative Trait Loci's). До цих локусів відносяться гени білків молока, другу групу складають гени гормонів соматотропінового каскаду. Зокрема, виявлена асоціація поліморфізму алельних варіантів гену гормону росту GH з надоем, вмістом жиру та білка у молоці. За цими показниками тварини гомозиготного генотипу LL перевершували тварин генотипів LV та VV із статистично значущим результатом [2, 5, 6, 8]. Подібна динаміка виявлена [5, 7] і за геном гіпофізарно-специфічного фактора транскрипції PIT-1, з перевагою тварин гомозиготного генотипу AA. Більшість досліджень спрямовані на вивчення асоціації поліморфізму алельних варіантів генів гормонів соматотропінового каскаду, зокрема гену гормону росту GH та гіпофізарно-специфічного фактора транскрипції PIT-1 з основними кількісними показниками молочної продуктивності і приростом маси тіла [6].

**Метою досліджень є вивчення поліморфізму алельних варіантів генів соматотропіну GH і гіпофізарно-специфічного фактора транскрипції PIT-1 та його впливу на молочну продуктивність високопродуктивних голштинських корів в умовах інтенсивної технології виробництва молока (холодний спосіб вирощування телиць, раннє осіменіння телиць у 13,5-14 міс., високі щоденні експлуатаційні навантаження на організм тощо).**

Дослідження проведені у ПрАТ «Агро-Союз» Дніпропетровської області на стаді з 170 голштинських корів (одновікових аналогів), у тому числі 136 напівсисів, дочок бугая-плідника Кашемір Ет 131671771.

Вихідним матеріалом слугували зразки ДНК, виділені з крові піддослідних тварин.

Для визначення поліморфізму маркерних генів використовували метод ПЛР-ПДРФ [1]. Дослідження координували спеціалісти лабораторії генетичного контролю Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН (м. Полтава).

Геномну ДНК виділяли за допомогою смоли «Chelex-100».

Реакцію проводили в ампліфікаторі «Терцик» фірми «ДНК-технологія».

Для ампліфікації фрагментів досліджуваних генів використовували наступні праймери: для гену гормону росту GH (F: 5'-CTGCTCCTGAGGGCCCTTC-3'; R: 5'-CGGCGGCACTTCATGACCC-3'), гену гіпофізарно-специфічного aTCTGCATTCGAGATGCTC-3').

Довжина ампліфікованого фрагмента гену GH становить 223 п.н., а фрагмента гену PIT-1 – 1355 п.н.

Для рестрикції гену GH використовували рестриктазу AluI. Після рестрикції фрагменти довжиною 171 п.н. і 52 п.н. виявляли у представників генотипу LL, а у носіїв генотипу VV виявлявся нерестрикційний фрагмент довжиною 223 п.н.

Рестрикцію ампліфікованого фрагмента гену PIT-1 здійснювали за допомогою ендонуклеази HinfI. Фрагменти довжиною 660 п.н., 425 п.н. та 270 п.н., після обробки продуктів ПЛР ендонуклеазою рестрикції HinfI, відповідають А-алелю; фрагменти 660 п.н., 385 п.н. та 270 п.н. вказують на В-алель.

Продукти рестрикції розділяли методом електрофорезу в 2-% агарозному гелі у тріс-боратному буфері. Візуалізацію проводили на транслюмінаторі в ультрафіолетовому світлі при довжині хвилі 380 нм після забарвлення гелю етидієм бромідом (0,5 мкг/мл). Розміри ДНК-продуктів визначали за допомогою маркера молекулярних мас: для гену GH pUC19/MSPI, для гену PIT-1 – pBR322 DNA / BsuRI, 1 kbDNA Ladder.

Електрофореграми документували за допомогою цифрової камери Canon.

Статистичну обробку матеріалу, кореляційний аналіз



Таблиця 1

Молочна продуктивність голштинських корів різних комплексних генотипів за першу лактацію,  $\bar{O} \pm S_{\bar{O}}$ 

Показники	Комплексний генотип корів		
	LL/AB (n =49)	LL/BB (n =95)	LV/BB (n =17)
Надій за 305 днів, кг	9652 $\pm$ 135,7***	9190 $\pm$ 109,7***	8329 $\pm$ 173,6
Вміст жиру, %	3,69 $\pm$ 0,008	3,67 $\pm$ 0,019	3,72 $\pm$ 0,023
Кількість молочного жиру, кг	356,2 $\pm$ 4,93***	337,3 $\pm$ 3,90***	309,8 $\pm$ 5,91
Вміст білка, %	3,19 $\pm$ 0,006	3,17 $\pm$ 0,004	3,18 $\pm$ 0,008
Кількість молочного білка, кг	307,9 $\pm$ 4,32***	291,3 $\pm$ 3,47***	264,9 $\pm$ 5,57

Примітка: \*\*\* ( $P > 0,999$ ) при порівнянні з генотипом LV/BB.

(метод кореляційних ґраток для альтернативних ознак) та дисперсійний аналіз однофакторних комплексів виконали у середовищі Microsoft Excel.

**Результати досліджень.** За поліморфізмом гена GH був характерним наступний розподіл генотипів: гомозиготних представниць генотипу LL було виявлено 148 гол. (87,00 %), гетерозиготних тварин генотипу LV – 20 гол. (11,80 %) та гомозиготних тварин генотипу VV – 2 гол. (1,20 %). Оскільки тварини гомозиготного генотипу VV представлені малочисельною вибіркою ( $n = 2$ ), ми вивчали основні показники молочної продуктивності за 305 днів першої та другої лактації лише у представниць генотипів LL та LV.

Було з'ясовано, що значно вищі надії за 305 днів першої лактації мають первістки генотипу LL на 838 кг ( $P > 0,999$ ) порівняно з ровесницями генотипу LV. Корови генотипу LL відрізнялися від ровесниць генотипу LV більшою кількістю молочного жиру на 27,5 кг ( $P > 0,999$ ) та молочного білка на 27,5 кг ( $P > 0,999$ ), тоді як за вмістом у молоці жиру і білка різниця виявилась статистично не вірогідною.

Подібна динаміка показників спостерігалась у голштинських корів цих генотипів і за 305 днів другої лактації, зокрема тварини генотипу LL виявили перевагу над тваринами генотипу LV за надоем на 1082 кг ( $P > 0,999$ ), молочним жиром на 35,7 кг ( $P > 0,99$ ) та молочним білком на 33,4 кг ( $P > 0,99$ ). За вмістом у молоці жиру та білка різниця була незначною і статистично не вірогідною на користь тварин генотипу LV.

Частка впливу генотипу за геном GH на надій, кількість молочного жиру та білка за першу і другу лактації була в діапазоні 5,5 – 7,8 % за  $P > 0,99$  – 0,999. Нами встановлено, що гомозиготність (LL) за геном GH супроводжується збільшенням надойів ( $r = +0,235 \pm 0,073$  за  $P > 0,99$ ), кількості молочного жиру ( $r = +0,185 \pm 0,075$  за  $P > 0,95$ ), кількості молочного білка ( $r = +0,193 \pm 0,074$  за  $P > 0,99$ ) за 305 днів першої лактації, і за 305 днів дру-

гої лактації відповідно: ( $r = +0,272 \pm 0,086$  за  $P > 0,99$ ), ( $r = +0,180 \pm 0,090$  за  $P > 0,95$ ), ( $r = +0,223 \pm 0,089$  за  $P > 0,95$ ). За поліморфізмом гена PIT-1 був характерним наступний розподіл генотипів: гомозиготних представниць генотипу AA було виявлено 4 гол. (2,40 %), гетерозиготних тварин генотипу AB – 53 гол. (31,20 %) і гомозиготних тварин генотипу BB – 113 гол. (66,40 %). Нами не вивчалися показники молочної продуктивності представниць генотипу AA внаслідок малочисельності вибірки ( $n = 4$ ).

За даними досліджень з'ясовано, що гетерозиготні тварини генотипу AB за геном PIT-1 виявили перевагу за першу лактацію за надоем на 580 кг ( $P > 0,999$ ), кількістю молочного жиру на 22,3 кг ( $P > 0,999$ ) та кількістю молочного білка на 19,3 кг ( $P > 0,999$ ) над гомозиготними однолітками. А за вмістом жиру та білка у молоці різниця між генотипами AB та BB була не істотна, та становила 0,01 % ( $P < 0,95$ ).

Перевага гетерозиготних тварин генотипу AB гена PIT-1 над гомозиготними тваринами генотипу BB спостерігалась і за 305 днів другої лактації. Так, надії корів генотипу AB вищі на 577 кг ( $P > 0,95$ ), кількість молочного жиру більша на 22,6 кг ( $P > 0,99$ ), молочного білка на 19,7 кг ( $P > 0,99$ ). Різниця за вмістом жиру та білка у молоці статистично не вірогідна.

За 305 днів першої та другої лактації, частка впливу генотипів AB та BB за геном PIT-1 на надій, кількість молочного жиру та білка виявилась у межах 4,9 – 7,5 % за  $P > 0,95$  – 0,999, а на вміст жиру та білка в молоці в межах 1,2 – 1,4 % за  $P < 0,95$ .

З'ясовано, що гетерозиготність AB за геном PIT-1 супроводжується більшими надоями ( $r = +0,229$ – $0,233$  за  $P > 0,99$ ), більшою кількістю молочного жиру ( $r = +0,232$ – $0,241$  за  $P > 0,99$ ) та молочного білка ( $r = +0,215$ – $0,255$  за  $P > 0,99$ ). Це пов'язують [5] з властивостями алеля A.

Піддослідні тварини розподілились на такі комплек-

Молочна продуктивність голштинських корів різних комплексних генотипів за другу лактацію,  $\bar{O} \pm S_{\bar{O}}$ 

Показники	Комплексний генотип корів		
	LL/AB (n =34)	LL/BV (n =66)	LV/BV (n =11)
Надій за 305 днів, кг	12003 $\pm$ 188,3***	11581 $\pm$ 150,7***	10430 $\pm$ 293,3
Вміст жиру, %	3,69 $\pm$ 0,014	3,68 $\pm$ 0,018	3,73 $\pm$ 0,021
Кількість молочного жиру, кг	442,9 $\pm$ 7,04***	426,2 $\pm$ 5,55**	389,0 $\pm$ 10,71
Вміст білка, %	3,20 $\pm$ 0,007	3,19 $\pm$ 0,005	3,19 $\pm$ 0,010
Кількість молочного білка, кг	384,1 $\pm$ 6,05***	369,4 $\pm$ 4,77***	332,7 $\pm$ 9,59

Примітка: \*\* (P > 0,99), \*\*\* (P > 0,999) при порівнянні з генотипом LL/BV.

сні генотипи: LL/AB – 49 гол. (28,82 %), LL/BV – 95 гол. (55,88 %) та LV/BV – 17 гол. (10,00 %). Внаслідок малочисельності вибірок за комплексними генотипами LL/AA – 4 гол.

(2,35 %), LV/AB – 3 гол. (1,77 %), VV/AB – 1 гол. (0,59 %), VV/BV – 1 гол. (0,59 %), нами не вивчалися показники молочної продуктивності цих представниць. Не виявлено тварин за комплексними генотипами LV/AA та VV/AA.

Результати досліджень асоціації генетичних комплексів за генами гормону росту GH та гіпофізарно-специфічного фактора транскрипції PIT-1 з показниками молочної продуктивності голштинських корів наведено в табл. 1 і 2.

Значно вищі надії мали первістки генотипу LL/AB на 1323 кг (P>0,999) та генотипу LL/BV на 861 кг (P>0,999) порівняно з представницями генотипу LV/BV.

Порівняно з коровами-первістками генотипу LV/BV, їх однолітки генотипу LL/AB характеризуються біль-

шим виходом молочного жиру на 46,4 кг (P>0,999) та молочного білка на 43 кг (P>0,999). У корів генотипу LL/BV кількість молочного жиру та білка виявилася більшою, відповідно на 27,5 кг (P>0,999) та 26,4 кг (P>0,999), ніж в однолітків генотипу LV/BV. За вмістом жиру та білка у молоці різниця між генотипами була не істотною.

Частка впливу комплексних генотипів на надій за 305 днів першої лактації, а також на кількість молочного жиру та білка виявилась значною, і була в діапазоні 28,1 – 30,2 % за P>0,999.

Встановлено, що гомозиготність LL (підвищення частоти алеля L) за геном GH у поєднанні з генотипами AB та BV за геном PIT-1 супроводжується вищим надоем за 305 днів першої лактації ( $r = +0,503 \pm 0,092$  за P>0,999), більшою кількістю молочного жиру ( $r = +0,503 \pm 0,092$  за P>0,999) та більшою кількістю молочного білка ( $r = +0,520 \pm 0,090$  за P>0,999).

Подібний вплив комплексних генотипів спостерігався і за другу лактацію (табл. 2).



Корови генотипу LL/AB виявили перевагу над представницями генотипу LV/BB за надоєм на 1573 кг ( $P > 0,999$ ), кількістю молочного жиру та білка, відповідно на 53,9 кг ( $P > 0,999$ ) та 51,4 кг ( $P > 0,999$ ). А корови генотипу LL/BB перевищили представниць генотипу LV/BB за надоєм на 1151 кг ( $P > 0,999$ ), кількістю молочного жиру та білка, відповідно на 37,2 кг ( $P > 0,99$ ) та 36,7 кг ( $P > 0,999$ ). За якісним складом молока у тварин різних комплексних генотипів різниця статистично не вірогідна.

Частка впливу комплексних генотипів на надій за 305 днів другої лактації, кількість молочного жиру та білка виявилась значною і була в діапазоні 26,6 – 29,8 % за  $P > 0,999$ . Найменший вплив комплексних генотипів спостерігався на вміст жиру та білка в молоці і був в межах 3,2 – 3,7 % за  $P < 0,95$ .

Встановлено, що гомозиготність LL (підвищення частоти алеля L) за геном GH у поєднанні з генотипами AB та BB за геном PIT-1 супроводжується вищим надоєм за 305 днів другої лактації ( $r = +0,505 \pm 0,111$  за  $P > 0,999$ ), більшою кількістю молочного жиру ( $r = +0,505 \pm 0,111$  за  $P > 0,999$ ) та більшою кількістю молочного білка ( $r = +0,530 \pm 0,107$  за  $P > 0,999$ ).

#### Висновки

Встановлено статистично вірогідний, прямий кореляційний зв'язок, середній за силою, дає нам підставу вважати, що добір голштинських корів за генотипами генів гормону росту GH та гіпофізарно-специфічного фактора транскрипції PIT-1 буде ефективним для подальшого розвитку стада за основними показниками молочної продуктивності.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Буркат В. П., Копилов К. В., Копилова К. В. ДНК-діагностика великої рогатої худоби в системі геномної селекції (методичні рекомендації). – Київ, 2009. – 112 с.

2. Копилов К. В. ДНК-діагностика генетичних ресурсів великої рогатої худоби : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. с.-г. наук: спец. 03.00.15 «Генетика». – с. Чубинське, 2011. – 33 с.

3. Копилова К. В., Копилов К. В., Арнаут К. О. О собливості генетичної структури різних порід великої рогатої худоби за локусами кількісних ознак. URL: [http://www.nbuiv.gov.ua/portal/chem\\_biol/nvnu/2009\\_138/09kkv.pdf](http://www.nbuiv.gov.ua/portal/chem_biol/nvnu/2009_138/09kkv.pdf) (дата звернення 29.09.2014).

4. Dekkers C. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons // Journal of animal science. – 2004. – № 82, suppl. 13. – P. 313–328.

5. Zwierzchowski L., Krzyzewski J., Strzalkowska N. Effects of polymorphism of growth hormone (GH), Pit-1, and leptin (LEP) genes, cow's age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of Polish Black and White cows // Anim. Sci. Papers and Reports. – 2002. – Vol. 20. – № 4. – P. 213–227.

6. Hoj S., Fradholm M., Larsen N. Growth hormone gene polymorphism associated with selection for milk fat production in lines of cattle // Animal genetics. – 1993. – Vol. 24. – № 2. – P. 91–95.

7. Moody D., Pomp D., Barendse W. Restriction fragment length polymorphism in amplification products of the bovine Pit-1 gene and assignment of Pit-1 to bovine chromosome 1 // Anim. Gen. – 1995. – Vol. 26. – № 1. – P. 45–47.

8. Lucy M., Hauser S., Eppard P. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production // Domestic animal endocrinology. – 1993. – Vol. 10. – № 4. – P. 325–333.

