

Влияние гаплотипа «дефицит холестерина» (HCD) на интенсивность прироста живой массы тёлоч голштинской породы*

Т.Е. Лихачева, аспирантка, ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский ГАУ; М.В. Позовникова, к.б.н., ВНИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста

Молочное скотоводство на современном этапе не может эффективно развиваться без постоянно-го расширения и углубления знаний. Предметом интенсивных исследований сегодня является поиск молекулярно-генетических маркеров, которые положительно или отрицательно ассоциированы с рядом хозяйственно полезных признаков животных. Особое место в этом аспекте занимают летальные рецессивные мутации, которые наносят значительный ущерб сельскому хозяйству. Новые подходы в генотипировании животных позволяют выявлять неизвестные ранее генетические дефекты. Так, в 2015 г. была определена мутация в гене *APOB* на 11-й хромосоме, которая приводит к нарушению метаболизма холестерина у телят. Причиной данной мутации была вставка (инсерция) мобильного LTR-элемента (ERV2-1) размером 1299 bp, расположенная между 24-м и 25-м нуклеотидами. Данный дефект определён как новый гаплотип фертильности голштинского скота и получил название «гаплотип дефицита холестерина» (HCD haplotype cholesterol deficiency). Анализ родословных позволил определить, что данная мутация берёт начало от известного быка Maughlin Storm 5457798, что в дальнейшем было подтверждено молекулярно-генетическими методами [1]. При данном генетическом дефекте клинические проявления можно наблюдать только в гомозиготном состоянии: идиопатическая диарея, кахексия (при сохранении аппетита), ломкость шерсти, отсутствие холестерина в сыворотке крови или его критически низкие значения, лейкоцитоз, пониженный уровень гемоглобина, что в комплексе приводит к гибели телят в первые месяцы жизни. У гетерозиготных животных не наблюдается внешних проявлений болезни, но отмечается некоторое нарушение жирового обмена, которое определяется по биохимическим исследованиям. Этот фактор определяют как одну из возможных причин замедленного роста и развития телят — гетерозиготных носителей HCD и как следствие снижение сроков отёлов тёлоч [2], так как одним из важнейших источников энергии в организме являются липиды (жирные кислоты и холестерол), участвующие вместе с белками в построении клеточных структур [3].

На сегодняшний день импортное поголовье быков тестируется на предмет носительства гаплотипа HCD. По данным Н.А. Зиновьевой с соавт.

(2016), среди 584 импортных голштинских быков, используемых в России, у 10,3% (60 гол.) выявлен HCD в родословной отцов-носителей, которые принадлежат разным линиям и имеют различное происхождение (Канада, Австрия, США) [4].

Предыдущие наши исследования показали, что частота встречаемости данного дефекта среди коров чёрно-пёстрой породы с высокой долей кровности по голштинам составила 11,3% [5]. По данным зарубежных авторов, также отмечается высокая частота встречаемости данного гаплотипа в голштинских стадах и составляет от 5,07 до 17% [6–8].

Учитывая высокую степень распространения данного генетического дефекта, а также предполагаемое его негативное влияние в гетерозиготном состоянии на жировой обмен у молодняка, нами было проведено исследование, целью которого являлась оценка динамики роста тёлоч голштинской породы в зависимости от статуса по HCD.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось в период 2017–2018 гг. Анализируемое поголовье тёлочек принадлежало одному из племенных хозяйств Ленинградской области. Была сформирована выборка животных в возрасте от 3 до 16 мес. в количестве 236 гол., имеющих в родословной предков — носителей HCD. У 157 гол. тёлоч отцы, а у 79 гол. — отцы матерей имели подтверждённый статус HCD. Материалом для выделения геномной ДНК являлась венозная кровь животных. Для определения генотипов тёлоч проводили аллель-специфичную полимеразную цепную реакцию (АС-ПЦР) на термощикле Thermal Cycler T100 («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) (табл. 1) [9].

Электрофорез осуществляли на 2-процентном агарозном геле. Размер полученных фрагментов оценивали относительно маркера молекулярных масс (O'Gene Ruler Express DNA Ladder).

Путём ежемесячного индивидуального взвешивания определяли изменения живой массы каждого животного. На момент исследования животные находились в одинаковых условиях содержания и получали идентичные рационы.

Телят после рождения содержали в индивидуальных клетках до возраста 30 сут., а потом переводили в секции с групповым способом содержания. Новорождённым телятам выпаивали молозиво, далее их кормили молоком от матери. На 3-и сут. в рацион вводили предстартерные корма и воду. До 3-месячного возраста молодняку выпаивали пастеризованное цельное молоко с предстартером, а также включали в рацион сено и воду. Рацион телят включал: в возрасте от 3 до

* Работа выполнена по теме ГЗ №AAAA-A18-118021590138-1

1. Характеристика праймеров АС-ПЦР для определения indel-полиморфизма в гене *АРОВ*

Праймер	Аллель	Размер ПЦР-продукта
R 5'AGTGGAAACCCAGCTCCATTA3'	дикий (indel –)	249 п.о.
F 5'CACCTTCCGCTATTCGAGAG3'	мутантный (indel +)	436 п.о.
F5'GGTGACCATCCTCTCTCTGC3'	общий праймер	

6 мес. – силос – 6 кг, комбикорм – 2 кг, сено – 2 кг; от 6 до 16 мес. – силос – 25 кг, сено – 2 кг, комбикорм – 2 кг, жмых подсолнечника – 0,5 кг, витаминно-минеральный комплекс, соду, мел – по 0,1 кг соответственно.

Данные о родословных тёлочек получены из племенных карточек формы 2-МОЛ. Биометрическая обработка цифровых данных выполнена с помощью программ Microsoft Excel и AtteStat. По результатам однофакторного дисперсионного анализа по критерию Фишера сравнивали средние значения показателей.

Результаты исследования. Генотипы животных были определены по данным, полученным на основании электрофореграмм (рис. 1).



Рис. 1 – Электрофореграмма продуктов АС-ПЦР на наличие indel-полиморфизма в гене *АРОВ*: М – маркер молекулярных масс; дорожка 2, 3, 4, 9 – не носитель НСД (соответствует фрагменту длиной 249 п.н.); дорожка 1, 5, 6, 7, 8 – гетерозиготный носитель НСД (определяет наличие фрагмента длиной 436 п.н.)

Результаты нашего исследования показали, что частота встречаемости носительства дефекта НСД в анализируемой группе тёлочек составляла 26,7%

(63 гол. из 236). Наследуемость по отцовской линии составляла 29,3% (46 гол. из 157), а по материнской – 21,5% (17 гол. из 79).

Данные таблицы 2 показывают, что тёлки – носители гетерозиготного генотипа НСД значительно уступали в развитии своим сверстницам во все возрастные периоды жизни. В среднем разница между показателями составляла от 5,2 (2 мес.) до 21,0% (10 мес.). Постепенное увеличение показателя наблюдалось в период от 3 до 10 мес. (14,8 до 21,0%). С 11-месячного возраста разница в живой массе несколько уменьшалась – с 20,0 до 18,3%.

Данные диаграммы (рис. 2) наглядно показывают, что тёлки, имеющие в своём генотипе мутантный аллель, начиная с 3-месячного возраста резко отставали в росте по сравнению со своими сверстницами.

Интенсивность роста тёлочек молочных пород является важным моментом при выращивании ремонтного молодняка, так как во многом определяет его дальнейшую молочную продуктивность, а также сроки первого осеменения и первого отёла. Наиболее важным в жизни тёлки является период полового созревания, продолжающийся с 6 до 9 мес. Наступление половой зрелости в большей мере зависит от живой массы тёлки, чем от возраста. Если тёлка отличается низким уровнем прироста живой массы, то половая зрелость у неё может наступить в более поздние сроки. Для тёлочек голштинской породы первое осеменение рекомендовано проводить в возрасте 14–16 мес., но только после

2. Интенсивность развития тёлочек в разные возрастные периоды в зависимости от статуса по НСД

Возраст, мес.	Живая масса, кг			
	n	носитель НСД ($X \pm S_x$)	n	свободный от НСД ($X \pm S_x$)
Новорожд.	63	42,6±0,1	173	47,6±0,1 ***
1	63	57,1±0,2	173	61,3±0,2 ***
2	63	73,8±0,3	173	77,9±0,6 ***
3	63	86,4±0,4	173	101,2±0,3 ***
4	59	109,6±0,2	165	126,2±0,2 ***
5	57	133,1±0,4	158	158,4±0,1 ***
6	56	157,6±0,5	152	190,9±0,2 ***
7	52	180,1±0,7	138	218,4±0,1 ***
8	46	204,7±0,3	122	245,9±0,2 ***
9	41	227,4±0,4	107	272,1±0,3 ***
10	39	249,7±0,6	95	309,3±0,3 ***
11	33	272,9±0,3	78	341,8±0,4 ***
12	32	299,8±1,1	67	371,1±0,4 ***
13	27	324,1±0,8	59	400,6±0,6 ***
14	25	357,9±0,6	54	432,2±0,4 ***
15	22	379,5±0,8	47	460,2±0,5 ***
16	18	400,9±0,7	43	490,7±0,5 ***

Уровень достоверности *** $P < 0,001$

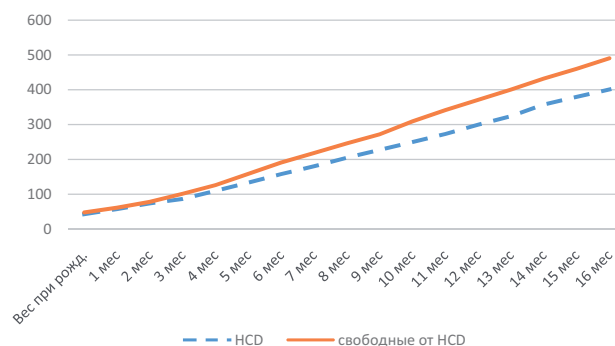


Рис. 2 – Динамика живой массы тёлочек в зависимости от статуса по HCD

того, как тёлка достигнет 50–60% живой массы от взрослого веса, что составляет 380–400 кг [10]. По результатам нашего исследования можно отметить, что тёлки – носители HCD достигают оптимальной живой массы для первого осеменения только к возрасту 16 мес., тогда как животные, свободные от данной мутации, уже в 13 мес. имеют достаточную живую массу. Можно предположить, что низкий темп роста животного может привести к снижению сроков осеменения, что в свою очередь повлечёт за собой повышение экономических затрат хозяйства. Себестоимость одного дня выращивания тёлочек в возрасте 6–16 мес. в хозяйстве, где проводили опыт, составляла 85,5 руб. в день на 1 гол. Соответственно смещение сроков осеменения в среднем на 2 мес. (60 дн.) у тёлочек – носителей HCD будет выражаться в экономических потерях с одной головы в размере 5130 руб.

Также одним из не менее важных аспектов является гибель телят в случае рождения гомозиготной особи. Учитывая высокую частоту встречаемости гаплотипа HCD в голштинских стадах, при подборе родительских пар следует учитывать статус животных по HCD, так как если оба родителя будут носителями мутантного аллеля, рождение нежизнеспособного потомства составит 1:4. Это также будет наносить экономический ущерб хозяйствам.

Выводы. Частота встречаемости гаплотипа HCD в исследуемой группе тёлочек голштинской породы, имеющих в родословных предков – носителей

данного генетического дефекта, составила 26,7%. Гетерозиготные животные отличаются низкими темпами прироста живой массы в сравнении со сверстницами, а следовательно, позже достигают сроков первого осеменения. Таким образом, с целью снижения экономических потерь в голштинских стадах и своевременного вывода из системы воспроизводства отстающих в развитии тёлочек, рекомендуется проводить тестирование ремонтного молодняка, в родословных которых выявлены предки – носители исследуемой мутации на предмет носительства летального генетического дефекта HCD.

Литература

- Kipp S., Segelke D., Schierenbeck S., Reinhardt F., Reents R., Wurmser C., Pausch H., Fries R., Thaller G., Tetens J., Pott J., Piechotta M., Grünberg W. A New Holstein Haplotype Affecting Calf Survival // *Interbull Bulletin*, 2015. № 49. P. 49–53.
- Gross J.J., Schwinn A.C., Schmitz-Hsu F., Menzi F., Drögemüller C., Albrecht C., Bruckmaier R.M. Rapid Communication: Cholesterol deficiency-associated APOB mutation impacts lipid metabolism in Holstein calves and breeding bulls // *Journal of animal science*, 2016. № 94(4). P. 1761–1766.
- Колчанов Н.А. Генные сети липидного метаболизма / Н.А. Колчанов, М.И. Воевода, Т.Н. Кузнецова [и др.] // *Сибирский научный медицинский журнал*. 2006. № 2(120). С. 29–42.
- Зиновьева Н.А. Дефицит холестерина – новый рецессивный дефект голштинского скота / Н.А. Зиновьева, О.В. Костюнина, В.В. Волкова [и др.] // *Молочное и мясное скотоводство*. 2016. № 2. С. 5–8.
- Позовникова М.В., Лихачева Т.Е., Ширяев Г.В. Влияние мутации дефицит холестерина на репродуктивные качества коров голштинизированной чёрно-пёстрой породы // *Генетика и разведение животных*. 2018. № 2. С. 61–66.
- Menzi F., Besuchet-Schmutz N., Fragnière, M., Hofstetter S., Jagannathan V., Mock T., Raemy A., Studer E., Mehinagic K., Regenscheit N., Meylan M., Schmitz-Hsu F., Drögemüller C. A transposable element insertion in *APOB* causes cholesterol deficiency in Holstein cattle // *Animal Genetics*, 2016. № 47(2). P. 253–257.
- Li Y., Fang L., Liu L., Zhang S., Ma Z., Sun D. The cholesterol deficiency-associated mutation in *APOB* segregates at low frequency in Chinese Holstein cattle // *Canadian Journal of Animal Science*, 2018. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/CJAS-2017-0108#.XAUjV2gzaUk> (Дата обращения 03.12.2018).
- Van Doormaal B., Beavers L. HCD: Haplotype associated with Cholesterol Deficiency. Canadian Dairy Network (CDN), 2015. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdn.ca/images/uploaded/file/HCD%20Update%20Article%20-%20December%202015.pdf>. (Дата обращения 03.12.2018).
- Kamiński S., Ruś A. Cholesterol Deficiency – new genetic defect transmitted to Polish Holstein-Friesian cattle // *Polish journal of veterinary sciences*, 2016. № 19(4). P. 885–887.
- Ваттио М. Выращивание телят молочного направления. Орел, 2006. 142 с.