

ОЦЕНКА МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-АНАЛИЗА СОМАТОТРОПИНА И КОЛИЧЕСТВА СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ

Ключевые слова: соматотропин, полиморфизм, соматические клетки, лактация, молочная продуктивность, содержание жира, содержание белка.

Введение

Безопасность и качество сельскохозяйственного сырья и продуктов питания признаны приоритетными областями научных исследований и технологии их производства.

Достижения современной молекулярной генетики позволяют определять гены, контролирующие хозяйственно-полезные признаки, выявлять варианты генов, взаимосвязанные с качественными и количественными показателями продуктивности.

В последние годы с помощью ДНК-технологии можно установить генотип животного независимо от его физиологического состояния, пола, возраста, сезона года, что является важным в селекционной работе с животными.

При этом дополнительно к традиционным методам отбора можно с успехом проводить селекцию в стадах, используя для этих целей генотипы полиморфных систем. Современным направлением в селекции сельскохозяйственных животных является генотипирование полиморфных вариантов генов гормона роста, сопутствующего селекции (marker assisted selection), позволяющего наряду с отбором по фенотипу вести отбор по выявлению предпочтительных вариантов генов хозяйственно-полезных признаков. Особое внимание привлекают такие гены, как пролактин и соматотропин, контролирующие протекание метаболических процессов в организме. Так, гормон роста соматотропин (GH) синтезируется в передней доле гипофиза и регулирует рост мышечных тканей и процессы лактации. В гене GH идентифицировано несколько мутаций [1-3]. Наиболее изучена взаимосвязь мутации в пятом экзоне с продуктивностью крупного рогатого скота. Данная мутация представляет собой C→G

трансверсию в нуклеотидной последовательности 2141, приводящую к замене аминокислоты лейцин (L) на валин (V) в 127 позиции полипептида. Этот одиночный нуклеотидный полиморфизм приводит к образованию двух аллелей: L – GH1 и V – GH1. Материалы по влиянию V-аллеля на фенотипическое проявление количественных признаков продуктивности различны, а иногда противоречивы.

В связи с вышеизложенным целью наших исследований заключалась в генотипировании структуры популяции чернопестрого скота по гену GH; изучении ассоциаций полиморфных вариантов гена гормона соматотропина на концентрацию соматических клеток (КСК), молочную продуктивность и лактационную деятельность дочерей разных быков.

Материал и методы исследования

Концентрацию соматических клеток в молоке (КСК) изучали на анализаторе вискозиметрическом «Соматос». Измерение КСК (тыс/см³) проводили как в сборном молоке, так и по отдельным коровам (n-410), отелы и лактация у которых проходили примерно в одинаковые сроки. Качество молока определялось на приборе «Лактан-4»). Исследование проводилось в 2010 г. на коровах чернопестрой породы третьей лактации в племярепродукторе «Красное Знамя» Псковской области.

Удой за 2010 г. в стаде (n-500) составил 5390 кг в среднем на корову.

Молоко на КСК от подопытных коров исследовалось начиная со второго месяца после отела, через каждые 10 дней лактации до ее окончания, затем вычислялся средний показатель за каждый месяц.

ДНК выделяли из образцов ушных выщипов животных. Генотипирование ДНК исследуемых генов проводили методом полиморфной цепной реакции – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПЦР – ПДРФ). Рестрикция ПЦР-продуктов проводилась эндонуклеазами при

температуре 37°C. Проверку продуктов рестрикции осуществляли в 2%-ном агарозном геле.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 представлены результаты распределения частот генотипов и аллелей соматотропина в исследованной группе.

В изученной популяции не выявлено нарушения генетического равновесия, выраженное формулой Харди-Вайнберга, утверждающей, что разница между наблюдаемым и ожидаемым распределением генотипов составила 1,17 и не достигла достоверной значимости при двухаллельной системе. Однако необходимо заметить, что в изученной группе наблюдался избыток аллелей LV и VV и недостаток животных с гомозиготным аллелем LL. Уровень полиморфности по соматотропину составил 15,8%.

По поводу того, какое количество соматических клеток в молоке является

нормальным, а какое повышенным с точки зрения диагностики мастита, единого мнения до сих пор нет. Одни авторы считают нормальным молоко, в котором содержание соматических клеток не превышает 100 тыс. единиц в 1 см³, другие – от 300 тыс. до 1 млн единиц. Международная молочная федерация рекомендует считать молоко хорошим, если оно содержит не более 500 тыс. единиц в 1 мл молока. В странах Европы этот показатель составляет в среднем 300 тыс. единиц. Новый технический регламент на молоко и молочную продуктивность ужесточил требования к количеству соматических клеток – с 500 тыс. в 1 см³ до 200 тыс. см³.

Как свидетельствуют материалы таблицы 2, самое высокое содержание КСК в сборном молоке отмечено в августе и другие летние месяцы, относительно самое низкое в декабре и в среднем за три зимних месяца.

Таблица 1

Частота аллелей и генотипов соматотропина у коров черно-пестрой породы

Показатели	Генотипы (n=110)			Частота генотипов (P)
	LL	LV	VV	
Наблюдаемое количество (H)	65	37	8	P ^L = 0,759 P ^V = 0,241
Ожидаемое количество (O)	63,4	40,2	6,2	Частота аллелей LL = 0,591 LV = 0,336 P VV = 0,073
Разность (H-O)	-1,6	+3,2	+1,8	Коэф. Hе = 0,336; Коэф. Hо = 0,664 X ² = 1,17

Таблица 2

Концентрация соматических клеток в сборном молоке коров по месяцам и сезонам года

Месяц	Показатель M±m тыс./см ³	Сезон года (M±m)
Июнь	337,4±17,5	Лето, 341,9±12,3
Июль	333,4±9,4	
Август	354,8±8,9	
Сентябрь	324,0±13,4	Осень, 321,5±14,9
Октябрь	321,0±16,1	
Ноябрь	319,4±15,8	
Декабрь	291,4±17,5	Зима, 289,8±18,3
Январь	285,3±19,4	
Февраль	292,7±14,8	
Март	316,3±15,9	Весна, 318,4±28,6
Апрель	322,9±15,8	
Май	316,1±19,3	

Влияние генотипа GH на уровень удоя и качественные показатели молока коров

Генотип GH	Месяц лактации	Количество соматических клеток, тыс. см ³	Жир, %	Белок, %
Средний удой молока (кг) за 305 дн. лакт. 5562 ± 110				
LL (n-15)	2	396,2	3,62	3,99
	3	399,7	3,69	3,03
	4	402,2	3,83	3,06
	5	420,1	3,99	3,08
	6	431,3	4,02	3,07
	7	460,4	4,01	3,07
	8	484,6	4,02	3,1
	9	470,6	4,06	3,11
	10	474,6	4,17	3,11
В среднем		437,8±13,5	3,93±0,02	3,07±0,2
Средний удой молока (кг) за 305 дн. лакт. 5275 ± 82				
LV (n-18)	2	380,1	3,62	3,01
	3	367,2	3,73	3,03
	4	396,6	3,81	3,05
	5	399,9	3,92	3,05
	6	419,2	3,93	3,07
	7	442,1	3,99	3,08
	8	483,9	4,01	3,08
	9	463,1	4,24	3,08
	10	456,4	4,3	3,16
В среднем		423,2±9,7	3,95±0,01	3,07±0,02
Средний удой молока (кг) за 305 дн. лакт. 5257 ± 101				
VV (n-8)	2	392,2	3,65	3,01
	3	383	3,77	3,03
	4	396,8	3,85	3,05
	5	412,8	3,96	3,05
	6	439,2	4,08	3,07
	7	448,6	4,16	3,08
	8	436,8	4,18	3,08
	9	507,2	4,08	3,08
	10	455,8	4,57	3,16
В среднем		430,6±10,2	4,03±0,03	3,07±0,03

В таблице 3 представлены результаты анализа молочной продуктивности полно-возрастных коров разных генотипов соматотропина, изменения концентрации соматических клеток, содержания жира и белка в молоке по месяцам лактации и в среднем за лактацию.

Содержание жира в молоке было относительно высоким в группе коров гено-

типа GH VV, на 0,10% выше ($P \leq 0,001$), чем у коров генотипа LL, и на 0,008% ($P \leq 0,01$), чем у животных генотипа LV. Самая высокая концентрация соматических клеток в среднем за год отмечена у коров генотипа LL – 437,8 тыс. см³, относительно низкая – 423,2 тыс. см³ у гетерозигот LV. Средние показатели были у коров гомозиготного генотипа VV.

Влияние быков и генотипов GH на качественные показатели молока коров

Генотип GH	Кличка и № быка	Удой за 305 дн. лакт., кг ($M \pm m$)	Качественные показатели молока ($M \pm m$)		
			концентрация соматических клеток, тыс/см ³	жир, %	белок, %
LL (n-31)	Вертолет 3284	5223 ± 144	453 ± 17	3,95 ± 0,04	3,08 ± 0,05
	Индикатор 3401	5154 ± 162	455 ± 22	4,0 ± 0,06	3,06 ± 0,02
	Порох 600016	5285 ± 151	369 ± 17	4,0 ± 0,04	3,13 ± 0,02
	Форстер 459	5842 ± 184	342 ± 26	3,98 ± 0,04	3,06 ± 0,03
	Шелест 241	5342 ± 130	358 ± 21	3,93 ± 0,05	3,06 ± 0,01
	Геолог 162	5903 ± 136	406 ± 29	3,88 ± 0,05	3,07 ± 0,01
LV (n-23)	Вертолет 3284	5155 ± 107	408 ± 12	3,97 ± 0,03	3,07 ± 0,01
	Порох 600016	5214 ± 114	365 ± 20	3,98 ± 0,07	3,07 ± 0,02
	Форстер 459	5503 ± 105	388 ± 31	3,92 ± 0,02	3,05 ± 0,01
	Геолог 162	5781 ± 139	387 ± 19	3,06 ± 0,05	3,06 ± 0,05
VV (n-8)	Вертолет 3284	5355 ± 140	486 ± 18	3,69 ± 0,03	3,05 ± 0,03
	Индикатор 3401	4196 ± 199	454 ± 14	3,71 ± 0,04	3,01 ± 0,01
	Геолог 162	6338 ± 117	425 ± 23	3,76 ± 0,05	3,01 ± 0,02

Увеличение количества соматических клеток у коров разных генотипов происходило начиная с четвертого месяца лактации и к десятому месяцу у животных генотипа GH LL возрастало на 19,9%, генотипа GH LV – на 11,3, генотипа GH VV – на 9,9%.

В наших исследованиях, а также ряда ученых основное внимание при изучении концентрации соматических клеток в молоке уделяется влиянию технологических условий производства, сезонам года, здоровью животных и т.д. Однако нельзя не учитывать индивидуальную устойчивость животных, обусловленную генетической детерминацией, влияния быков и генотипов коров по генам GH (табл. 4).

Как показывают результаты, самая высокая молочная продуктивность была у дочерей быка Геолога № 162 всех трех генотипов: LL, LV, VV, однако концентрация соматических клеток в молоке этих коров была относительно самой низкой по сравнению с дочерьми других быков. Обращает на себя внимание и тот факт, что в молоке дочерей быков Пороха № 600016 и Форстера № 459 генотипов LL и LV выявлена относительно невысокая концентрация соматических клеток. Однако полученные результаты требуют дальнейшего логического завершения.

Вывод

Содержание соматических клеток в молоке коров и продуктивность взаимосвязаны с генотипами GH соматотропина, сезонами года и быками-производителями. Однако полученные данные целесообразно дополнить более глубоким использованием математических моделей, используемых в биологических процессах, что позволит получить информацию в деталях процесса и возможных прогнозах.

Библиографический список

1. Колчев А. Влияние концентрации соматических клеток на качественные и технологические свойства молока / А. Колчев, О. Симонович // Главный зоотехник. – 2010. – № 3. – С. 27-30.
2. Lucy M.C. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production / M.C. Lucy, S.D. Hauser, P.J. Epnarol // Domestic Animal Endocrinology. – 1993. – 10. – 325-333.
3. Pawar R.S. Growth hormone gene polymorphism and its association with lactation yield in dairy cattle / R.S. Pawar, C.G. Joshi, D.N. Rank // Indian journal of Animal sciences. – 2007. – 11(9):884-888. – September.

