

## АССОЦИАЦИЯ SNPS TNF-A -824A/G И TNFR1 -1703C/T С НЕКОТОРЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ РОСТА И РАЗВИТИЯ МОЛОДНЯКА ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ

Люханов М.П.<sup>1</sup>, Короткевич О.С.<sup>1</sup>, Себежко О.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет», Новосибирск, lyuhanoff@yandex.ru

В работе представлены результаты исследования ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов TNF- $\alpha$  -824A/G и TNFR1 -1703C/T с массой тела молодняка, полученного от генотипированных коров черно-пестрой породы. Изучение однонуклеотидного полиморфизма проводилось методом постановки ПЦР в лаборатории Института цитологии и генетики СО РАН. Проанализированы результаты 100 отелов от генотипированных коров в возрасте 1-5 лактаций, разводимых в хозяйстве СПК «Кирзинский» Ордынского района Новосибирской области. Выявлена связь однонуклеотидного полиморфизма гена фактора некроза опухолей альфа с массой тела в возрасте 18 мес. У телят, полученных от коров, имеющих гомозиготный генотип A/G и гетерозиготный генотип G/G, по SNP TNF- $\alpha$  -824A/G масса тела была в среднем на 10,9% выше, чем у телят, матери которых имели гомозиготный генотип G/G (P<0,05). Это позволяет использовать его в качестве маркера при отборе ремонтных телок и племенного молодняка.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, черно-пестрая порода, однонуклеотидный полиморфизм, рост и развитие молодняка

## ASSOCIATION OF SNPS TNF-A – 824A / G AND TNFR1 – 1703C / T WITH SOME INDICATORS OF GROWTH AND DEVELOPMENT OF YOUNG BLACK-AND WHITE-BREED

Lyukhanov M.P., Korotkevich O.S., Sebezhko O.I.

*Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, lyuhanoff@yandex.ru*

The paper presents the results of a study association SNPs TNF- $\alpha$  -824A/G and TNFR1 -1703C/T with weight of calves received from genotyped cows of black-white breed. The study of single nucleotide polymorphism was performed by PCR in staging laboratory of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS. The results of 100 hotels genotipirovannyh cows aged 1-5 lactations bred on the farm SEC "Kirzinsky" Orda region of Novosibirsk region. The relation of single nucleotide polymorphism of tumor necrosis factor alpha with body weight on the age of 18 months was revealed. Calves received from homozygous A/G heterozygous and G/G cows at SNP TNF- $\alpha$  -824A/G body weight was on average 10.9% higher than in calves whose mothers had homozygous genotype G/G ( P <0.05). This allows you to use it as a marker for the selection of replacement heifers and breeding calves.

Keywords: cattle, black-and-white breed, single nucleotide polymorphism, growth and development of young

Скорость роста являются одним из важнейших экономических показателей, влияющим на выход мяса, формирование конституции, экстерьера и интерьера у сельскохозяйственных животных и используется в качестве селекционного признака [1-6,15,16,21,22]. Выявлены генетические полиморфные системы, ассоциированные с признаками продуктивности и устойчивости к болезням [14,18,32]. Установлено, что многие SNPs связаны с уровнем молочной и мясной продуктивности, скоростью роста молодняка, массой туш, качеством продукции, фертильностью и резистентностью к различным заболеваниям [7-11,23,24,27-30,35-37].

Китайскими исследователями у Luxi породы скота установлено, что SNP гена лептина влияет на индексы длины и ширины туловища, массы и высоты тела, а также связан с содержанием жировой ткани в сердце, печени, почках, селезенке, легких и мышцах [36].

Так же известно, что гены фактора роста Septin-7 (CBC10) и Atrogin-1 влияют на развитие мышечной массы и признаки роста коров [34,35]. В частности, установлено, что SNP гена Septin-7 влияет на динамику роста у животных трех японских пород скота и серой швейцарской породы [34]. Длина туловища двухгодовалых особей породы Nanyang связана с 4 SNPs гена Atrogin-1 [30]. Имеется корреляция SNPs генов бычьего инсулиноподобного фактора роста (IGF-I) и миогенного фактора (MYF5) с показателями роста [24]. В частности, установлено, что коровы с генотипом АВ имели большую массу тела в возрасте 3 месяца, чем животные, с гомозиготным генотипом ВВ. При этом SNP гена MYF5 оказывает влияние на массу животных в возрасте 12 мес. и величину среднесуточного прироста.

### **Материал и методы исследований**

Для исследований были взяты пробы венозной крови лактирующих коров чернопестрой породы в возрасте 1-5 лактаций, разводимых в хозяйстве СПК «Кирзинский». Эти животные исследованы по SNPs TNF- $\alpha$  -824A/G и TNFR1 -1703C/T. Средний уровень молочной продуктивности коров в хозяйстве равен 6100 кг. Были проанализированы показатели живой массы в различные периоды онтогенеза у 100 телят, полученных от генотипированных коров.

Изучение однонуклеотидного полиморфизма проводилось в лаборатории Института цитологии и генетики СО РАН совместно с Н.С. Юдиным. ДНК из венозной крови выделяли стандартным методом фенольно-протеолитической экстракции. Фрагмент гена TNF- $\alpha$  крупного рогатого скота исследовали с применением метода ПЦР-ПДРФ с использованием прямого праймера 5'-CCGAGAAATGGGACAACCT-3' и обратного праймера 5'-GCCATGTATCCCCAAGAAT-3'. ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик» (ДНК-технологии, Россия), в течение 35 циклов при температуре отжига 60°C. Реакция проходила в ПЦР SE буфере G. Продукт ПЦР оценивали вертикальным электрофорезом в 4% ПААГ, окрашенном бромистым этидием. Далее в продукт амплификации была внесена эндонуклеаза рестрикции EcoICRi (СибЭнзим, Россия), а затем оценивали в 4% ПААГ, окрашенном бромистым этидием. Определение однонуклеотидного полиморфизма TNFR1 -1703C/T проводилось методом постановки аллель-специфической ПЦР в SE буфере G с использованием праймеров 5'-1872-GGCTGCCAGATCGTGCCTGC-3'-общий, по нижней цепи 5'-1686-TCCGAGCCCCGCSTTCTGT-3'- для дикого типа, по верхней цепи и 5'-1686-TCCGAGCCCCGCSTTCTAC-3'- для мутантного типа. Аллель-специфическую ПЦР проводили в течение 35 циклов при температуре отжига 60°C. Продукт ПЦР оценивали вертикальным электрофорезом в 4% ПААГ, окрашенном бромистым этидием. Для статистической обработки использовался табличный редактор Gnumeric 1.10.16.

### **Результаты исследования и обсуждение**

Представленная работа является частью комплексных исследований генофонда и фенотипа животных [3,4,14,17-19] в различных экологических условиях среды [13,22,23,28]. В таблице 1 и таблице 2 представлены результаты анализа массы тела телят в возрасте 18 мес., полученных от коров с различными генотипами по SNPs TNF- $\alpha$  -824A/G и TNFR1 -1703C/T.

**Таблица 1**

Масса телят в 18 мес. в зависимости от генотипа матерей по SNP TNF- $\alpha$  -824A/G

Показатель		Генотип			Среднее по популяции
		A/A	A/G	G/G	
TNF- $\alpha$ -824 G/G	n	28	51	21	100
	$\bar{X} \pm S_x$	424,68 $\pm$ 9,27	424,71 $\pm$ 5,7	399,05 $\pm$ 8,68	419,31 $\pm$ 4,38

**Таблица 2**

Масса телят в 18 мес. в зависимости от генотипа матерей по SNP TNFR1 -1703C/T

Показатель		Генотип			Среднее по популяции
		C/C	C/T	T/T	
TNFR1 -1703C/T	n	51 (C/C)	42 (C/T)	7 (T/T)	100
	$\bar{X} \pm S_x$	424,51 $\pm$ 6,52	412,71 $\pm$ 6,44	421,0 $\pm$ 13,12	419,31 $\pm$ 4,38

Установлены достоверные различия по живой массе молодняка в 18 мес. в зависимости от генотипов матерей по SNP TNF- $\alpha$  -824A/G. Телята, полученные от гомозиготных (A/A) и гетерозиготных (A/G) коров имели живую массу на 10,9 % выше, чем молодняк от гомозигот (G/G) ( $P < 0,05$ ). При этом исследованный молодняк не имел различий по показателям энергии роста. Не выявлено различий по живой массе телят в 18-ти месячном возрасте в зависимости от генотипов их матерей по SNP TNFR1 -1703C/T.

Известно, что у крупного рогатого скота SNP гена TNF- $\alpha$  -824A/G влияет на ряд важных биологических процессов, в частности, кодирует синтез внеклеточного цитокина [27,37], образование желтого тела, апоптоз клеток, участвует в контроле развития молочной железы, а также связан с прогрессированием ВЛКРС-индуцированной лимфомы и ретровирусных инфекций [28,29].

Ранее нами сообщалось о связи SNP TNF- $\alpha$  -824A/G с показателями молочной продуктивности коров черно-пестрой и красной степной пород [8,9,30] и с некоторыми показателями гематологического и биохимического статуса крови лактирующих коров [9,30]. В то же время показано отсутствие ассоциации однонуклеотидного полиморфизма гена TNFR1 в положении -1703C/T на показатели молочной продуктивности черно-пестрого скота [10]. В селекции скота все больше используются молекулярно-генетические, биохимические,

химические и другие показатели для оценки интерьера и отбора животных в различные периоды онтогенеза по хозяйственно-полезным признакам [2,11,12,19,20,25,26,33].

Таким образом, в изученном стаде SNP TNF- $\alpha$  -824A/G связан со скоростью роста молодняка и некоторыми показателями молочной продуктивности, что в комплексе позволяет использовать его в качестве маркера при отборе ремонтных телок и племенного молодняка. В дальнейшем селекционную стратегию необходимо корректировать с уточнением уровня продуктивности и условий среды. У животных других пород использование однонуклеотидного полиморфизма TNF- $\alpha$  -824A/G в качестве молекулярно-генетического маркера возможно только после предварительного тестирования популяции животных.

### **Выводы**

Масса телят, полученных от гомозиготных A/A и гетерозигот A/G по SNP TNF- $\alpha$  -824A/G коров, была в среднем на 10,9% больше массы тела телят, матери которых имели генотип G/G ( $P < 0,05$ ). В исследованной популяции гомозиготность генотипа G/G может быть использована в качестве генетического маркера, связанного со снижением живой массы телят черно-пестрой породы в возрасте 18-и месяцев.

### **Список литературы**

1. Желтиков А.И. Черно-пестрый скот Сибири. / А.И. Желтиков, В.Л. Петухов, О.С. Короткевич и др. – Новосибирск: НГАУ, 2010. – 500с.
2. Зайко О.А. Особенности аккумуляции макро- и микроэлементов в миокарде свиней скороспелой мясной породы / О.А. Зайко, О.С. Короткевич, В.Л. Петухов // Главный Зоотехник. – 2013. - №6. – С. 35-40.
3. Зайко О.А. Характеристики генофонда линий породы свиней СМ-1 по аккумуляции свинца в органах и тканях / О.А. Зайко, Т.В. Коновалова // Свиноводство. - № 8. – С. 11-12.
4. Зайко О.А. Влияние генофонда семейств скороспелой мясной породы на аккумуляцию свинца в некоторых органах и тканях / О.А. Зайко, Т.В. Коновалова // Мир науки, культуры и образования. - № 4. – С. 432-434.
5. Камалдинов Е.В. Полиморфизм белков сыворотки крови свиней сибирской северной породы / Е.В. Камалдинов, О.С. Короткевич, В.Л. Петухов и др. // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2010. - № 4. – С. 49-51.
6. Короткевич О.С. Биохимические, гематологические параметры и аккумуляция тяжелых металлов в органах и тканях свиней скороспелой мясной породы / О.С. Короткевич, О.А. Желтикова, В.Л. Петухов // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. –

2009. - № 4. – С. 41-43.

7. Люханов М.П. Однонуклеотидный полиморфизм гена TNF- $\alpha$  и некоторые гематологические показатели крови крупного рогатого скота черно-пестрой породы / М.П. Люханов // Матер. Международной науч.-практ. конф. «Животноводство России в условиях ВТО»: от 9-11 апреля 2013, Орел. – Орел: ОГАУ, 2013. – С. 252-255.

8. Люханов М.П. Однонуклеотидный полиморфизм в популяции крупного рогатого скота красной степной породы / М.П. Люханов, О.С. Короткевич, О.И. Себежкои др. // Современные проблемы науки и образования. – 2014. - № 1. URL: <http://www.science-education.ru/115-12042> (Дата обращения 30.03.2015).

9. Люханов М.П. Связь SNPs гена TNF- $\alpha$  у черно-пестрого скота Западной Сибири с показателями молочной продуктивности / М.П. Люханов, О.С. Короткевич, В.Л. Петухов и др. // Главный зоотехник. – 2014. - № 10. – С. 21-26.

10. Люханов М.П. Исследование однонуклеотидного полиморфизма SNPs по гену TNFR1 у крупного рогатого скота черно-пестрой породы в Западной Сибири в связи с молочной продуктивностью / М.П. Люханов, В.Л. Петухов, О.С. Короткевич и др. // Зоотехния. – 2015. - № 3. – С. 2-3.

11. Нарожных К.Н. Содержание кадмия в некоторых органах и тканях бычков герефордской породы / К.Н. Нарожных, Ю.В. Ефанова, О.С. Короткевич // Мир науки, культуры, образования. – 2012. - № 4. – С. 315-318.

12. Нарожных К.Н. Содержание железа в некоторых органах и тканях бычков герефордской породы / К.Н. Нарожных, Ю.В. Ефанова, О.С. Короткевич и др. // Молочное и мясное скотоводство. – 2013. - № 1. – С. 24-25.

13. Незавитин А.Г. Проблемы сельскохозяйственной экологии / А.Г. Незавитин, В.Л. Петухов, А.Н. Власенко и др. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 2000. – 255 с.

14. Петухов В.Л. Влияние породы на устойчивость крупного рогатого скота к некоторым болезням / В.Л. Петухов, Е.В. Камалдинов, О.С. Короткевич // Главный зоотехник. – 2011. - № 1. – С. 10-12.

15. Петухов В.Л. Генетика / В.Л. Петухов, О.С. Короткевич, С.Ж. Стамбеков и др. – 2-е изд. – Новосибирск: СемГПИ, 2007. – 628 с.

16. Петухов В.Л. Генетическая структура кемеровской и крупной белой пород свиней по системам групп крови / В.Л. Петухов, А.И. Желтиков, В.В. Гарт и др. // Сельскохозяйственная

биология. – 2004. - № 2. – С. 43-49.

17. Петухов В.Л. Содержание тяжелых металлов в мышцах судака (STIZOTEDION LUCIOPERCA) / В.Л. Петухов, И.С. Миллер, О.С. Короткевич // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. – 2012. – Т. 2. - № 23-2. – С. 49-52.

18. Способ отбора крупного рогатого скота на устойчивость к туберкулезу. Петухов В.Л., Эрнст Л.К., Желтиков А.И., Незавитин А.Г. Короткевич О.С., Петухов И.В., Куликова С.Г. патент на изобретение RUS 2058733 27.04.1996.

19. Способ определения содержания кадмия в органах и мышечной ткани свиней. Петухов В.Л., Желтикова О.А., Желтиков А.И., Короткевич О.С., Каммалдинов Е.В., Себежко О.И. Патент на изобретение RUS 2342659 28.03.2007.

20. Стрижкова М.В. Содержание свинца в некоторых органах и тканях бычков черно-пестрой породы / М.В. Стрижкова, Т.В. Петухова, О.С. Короткевич // Главный зоотехник. - № 6. – С. 66-68.

21. Фридчер А.А. Хозяйственно полезные качества свиней приобского типа скороспелой мясной породы СМ-1 / А.А. Фридчер, В.Л. Петухов // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2010. - № 8. – С. 59-63.

22. Эрнст Л.К. Физиологические и иммунологические показатели голштинизированного сибирского типа черно-пестрого скота / Л.К. Эрнст, А.И. Желтиков, В.Л. Петухов // Доклады российской академии сельскохозяйственных наук. – 1999. - № 6. – С. 35.

23. Cai. H. SNPs of bovine HGF gene and their association with growth traits in Nanyang cattle / H. Cai, X. Lan, A. Li et. al. // Research in Veterinary Science – 2013. – V. 95. - № 10. – P. 483-488.

24. Chung E.R. Association of SNP marker in IGF-I and MYF5 candidate genes with growth traits in Korean cattle / E. R. Chung, W.T. Kim // Asian Austral. J. Anim. Sci. – 2005. – V. 18. - №8. – P. 1061-1065.

25. Chysyma R.B. The content of heavy metals in feeds of the Tyva Republic / R.B. Chysyma, V.L. Petukhov, E.E. Kuzmina et. al. // Journal De Physique IV JP XII International Conference on Heavy Metals in the Environment. Editors: C. Borton, C. Ferrari: Grenoble, 2003. – P. 297-299.

26. Chysyma R.B. Heavy metals concentrations in water and soil of different ecological areas of Tyva Republic / R.B. Chysyma, Y.Y. Bakhtina, V.L. Petukhov et. al. // Journal De Physique IV JP XII International Conference on Heavy Metals in the Environment. Editors: C. Borton, C. Ferrari: Grenoble, 2003. – 2003. – С. 301-302

27. Ikeda M. Immunohistochemical analysis of expression patterns of tumor necrosis factor

receptors on lymphoma cells in enzootic bovine leukosis. / M. Ikeda, S. Konnai, M. Onuma, et. al. // J. Vet. Med. Sci. – 2005. – V. 67. – P. 425-432.

28. Konnai S. Tumor necrosis factor-alpha genetic polymorphism may contribute to progression of bovine leukemia virus-infection / S. Konnai, T. Usui // Microbes and infection. – 2006. – №8. – P. 2163-2171.

29. Konnai S. Tumor necrosis factor-alpha up-regulation in spontaneously proliferating cells derived from bovine leukemia virus-infected cattle. / S. Konnai, T. Usui, M. Ikeda et. al. // Arch. Virol. – 2006. –V. 151. – P. 347-360.

30. Korotkevich O.S. Single nucleotide polymorphism in dairy cattle populations of West Siberia / O.S. Korotkevich, M.P. Lyukhanov, V.L Petukhov et.al. // Proceeding of the 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. – 2014. – P. 487.

31. Korotkevich O.S. Content of <sup>137</sup>CS and <sup>90</sup>SR in the forages of various ecological zones of Western Siberia / O.S. Korotkevich V.L. Petukhov, O.I. Sebezsko et. al. // Russian Agricultural Science – 2014. – V.40. - №3. – P. 195-197.

32. Patrashkov S.A. Content of heavy metals in the hair / S.A. Patrashkov, V.L. Petukhov, O.S. Korotkevich // Journal De Physique IV JP XII International Conference on Heavy Metals in the Environment. Editors: C. Borton, C. Ferrari: Grenoble, 2003. – P. 1025-1027.

33. Petukhova T.V. Content of heavy metals in the muscle tissue of cattle. E3S Web of conferences 1 1502 (2013). DOI: 10/1051 / e3scof ? 201301115002.

34. Tong B. Association of the expression levels in the skeletal muscle and a SNP in the CDC 10 gene with grownh-relates traits in Japanese black beef cattle / B. Tong, G.P. Li, S. Sasaki et. al. // Animal genetics. – 2015. – V.46. - №2. – P. 200-204.

35. Wang A. SNP identification in FBXO32 gene and their associations with growth traits in cattle /A. Wang, Y. Zhang, M. Li et. al. // Gene. – 2012. - № 12. – P. 515.

36. Yang D. Associanion of Single SNP and Q-PCR of Leptin gene with grown traits in chinese Luxi cattle / D. Yang // Journal of animal and veterinary advances. – V.12. - № 6. – P. 791-794.

37. Yudin N.S. Association of polymorphism harbored by tumor factor alpha gene and sex of calf with lactation perfomance in cattle // N.S. Yudin, R. B. Aitnazarov, M.I. Voevoda et al. // Asian Austral. J. Anim. Sci. – 2013. – V. 26. - №10. – P. 1379-1387.

#### **Рецензенты:**

Дементьев В.Н., д.с.-х.н., профессор, Новосибирский государственный аграрный университет, г. Новосибирск;

Рыков А.И., д.с.-х.н., ФГБНУ Сибирский научно-исследовательский и проектно-технологический институт животноводства “СибНИПТиЖ”, п. Краснообск-1.