

Полиморфизм ряда генов-кандидатов экономически значимых количественных признаков у крупного рогатого скота костромской породы и поиск его связи с продуктивными признаками

Лазебная И.В.^{1*}, Лазебный О.Е.²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* Lazebnaya@mail.ru

Ключевые слова: крупный рогатый скот; гены-кандидаты; признаки продуктивности

Мотивация и цель: Селекция сельскохозяйственных животных, основанная на использовании ассоциации аллелей определенных генов с экономически значимыми количественными и качественными признаками (отбор с помощью маркеров – Marker-Assisted Selection, MAS), является одним из эффективных методов достижения высоких результатов в аграрном производстве. Поиск и исследование спектров генов, относящихся к потенциальным физиологическим и позиционным ДНК-маркерам, проводится с конца прошлого столетия [1]. Достигнуты значимые результаты. Определены спектры генов, продукты которых вовлечены в формирование определенных количественных признаков молочной и мясной продуктивности крупного рогатого скота [2].

Несмотря на значительные результаты, достигнутые в направлении поиска новых и получения данных для уже известных SNP-маркеров, остается не совсем ясным, насколько универсален характер установленных ассоциаций и возможно ли их использование в селекции всех пород независимо от направления продуктивности этих пород, их происхождения и достижений ранее проведенной селекции. При этом имеют значение и частотные характеристики распределения наиболее ценных аллелей во внутрипородных выборках крупного рогатого скота, которые должны быть оценены, как и генотипирование быков-производителей, до проведения соответствующего отбора.

Целью настоящего исследования являлось изучение генетической структуры в выборках костромской породы крупного рогатого скота обоих полов с использованием SNP ряда генов-кандидатов (*GH*, *GHR*, *DGAT1*, *PRL*, *SCD*, *RORC*, *Lep*, *LepR*, *CSN3*) и выявление их ассоциаций с признаками молочной продуктивности дочерей исследованных быков.

Методы и алгоритмы: Генотипировали быков (N = 75) и коров (N = 120) костромской породы по SNP ряда генов-кандидатов: гормона роста (*GH*, L127V) и его рецептора (*GHR*, S555G), диацилглицерол ацилтрансферазы (*DGAT1*, K232A), пролактина (*PRL*, g.35108342A>G) и каппа-казеина (*CSN3*, Ile136Thr и Ala148Asp), стеароил-КоА-десатуразы (*SCD*, A293V) C-рецептора ретиноевой кислоты (*RORC*, g.3984A>G), стеароил-КоА-десатуразы (*SCD*, A293V), лептина

(*Lep*, Y7F) и его рецептора *LepR*, T945M), как описано [3–6]. Популяционно-генетический анализ проводили с использованием программ GenAlEx v.6.5 и STRUCTURE 2.3.4. Ассоциативный анализ признаков молочной продуктивности (удой (кг), содержание (%) и выход жира (кг)) дочерей общей численностью более 950 выполняли в связи с генотипами их отцов, быков-производителей, в программе STATISTICA 10.

Результаты: В исследованных выборках не выявлено значимого отклонения распределения наблюдаемых частот генотипов от их распределения согласно Харди–Вайнбергу. Установлена дифференциация выборок друг от друга по маркерам генов *CSN3*, *DGATI* и *LepR* согласно приведенным значениям вероятности для значений G_{ST} (табл. 1) и с учетом поправки на множественные сравнения Бенджамини–Хохберга [7].

Таблица 1. Значения коэффициента G_{ST} и их вероятность

Locus	<i>CSN3</i>	<i>PRL</i>	<i>GH</i>	<i>DGATI</i>	<i>SCD</i>	<i>RORC(A)</i>	<i>GHR</i>	<i>Lep</i>	<i>LepR</i>	Tot
<i>Gst</i>	0.016	–0.002	–0.002	0.044	0.007	–0.002	–0.002	0.006	0.034	0.011
<i>P</i>	0.006	0.748	0.627	0.001	0.039	0.957	0.663	0.067	0.001	0.001

Уровень дифференциации на основе комплекса маркеров с использованием индекса фиксации Райта (F_{ST}) 2.1 % ($P < 0.05$). Оба использованных метода, главных координат (GenAlEx v.6.503) и кластерный анализ (STRUCTURE 2.3), указывают на несколько большую изменчивость выборки быков по сравнению с коровами. При этом на первые главные оси приходится 35 % изменчивости, распределенной примерно поровну. Кластерный анализ показал наличие двух одинаковых кластеров в обеих выборках при значительной выраженности (70 %) у быков кластера, с большими различиями особей друг от друга в противоположность коровам, у которых его доля не более 30 %. Анализ ассоциаций исследованных SNP быков с продуктивными признаками дочерей обнаружил достоверные зависимости ($P < 0.05$) содержания (%) и выхода (кг) жира, удоя (кг) от генотипов гена *SCD* и содержания (%) жира от гена *CSN3*.

Выводы: Определены частотные характеристики исследованных SNP генов кандидатов в выборках обоих полов костромской породы крупного рогатого скота. Поскольку в селекции эффективно использовать аллели с частотой более 5 %, отметим, что аллели большинства маркеров преодолели этот порог, кроме *T*-аллеля гена *Lep* (Y7F) у коров (0.03), что не исключает возможности применения этих маркеров при отборе на продуктивные признаки, поскольку у быков частота данного аллеля составляет 0.07. У костромской породы установленные ассоциативные связи маркеров генов *SCD* (A293V) и *CSN3* (Pе136Thr и Ala148Asp) с количественными признаками молочной продуктивности дочерей исследованных быков можно учитывать наряду с методами традиционной селекции как при использовании спермы изученных быков для осеменения с коровами неизвестного генотипа, так и для формирования пар животных с известными генотипами при скрещивании для получения потомства с более выраженными признаками.

Финансирование: Исследование поддержано в рамках раздела государственного задания 2024 года ИБР РАН № 0088-2024-0011 и ИЭА РАН № 1023032600025-8-6.1.1 # 5.

Polymorphism of a number of candidate genes for economically important quantitative traits in the Kostroma cattle breed and its association with productive traits

Lazebnaya I.V.^{1*}, Lazebny O.E.²

¹ Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia

² Koltzov Institute of Developmental Biology, RAS, Moscow, Russia

* Lazebnaya@mail.ru

Key words: cattle; candidate genes; productivity traits

Motivation and Aim: Selection of livestock animals based on the use of association of alleles of certain genes with economically significant quantitative and qualitative traits (marker-assisted selection, MAS) is one of the effective methods to achieve high results in agricultural production. The search and investigation of gene spectra related to potential physiological and positional DNA markers have been conducted since the end of the last century [1]. Significant results have been achieved. Gene spectra have been identified, the products of which are involved in the formation of certain quantitative traits of dairy and beef productivity in cattle [2]. Despite significant results achieved in the search for new and obtaining data for already known SNP markers, the universal nature of the established associations and their potential use in the selection of all breeds, regardless of the direction of productivity, origin, and achievements of previous selection, remain somewhat unclear. In addition, the frequency characteristics of the distribution of the most valuable alleles in within-breed samples of cattle are important and should be evaluated, as well as the genotyping of sire bulls, prior to conducting the corresponding selection. The aim of this study was to investigate the genetic structure in samples of the Kostroma cattle breed of both sexes using SNP markers of candidate genes (*GH*, *GHR*, *DGAT1*, *PRL*, *SCD*, *RORC*, *Lep*, *LepR*, *CSN3*) and to identify their associations with milk productivity traits of the offspring of the studied bulls.

Methods and Algorithms: Genotyping was conducted on bulls (N = 75) and cows (N = 120) of the Kostroma breed using SNP markers of candidate genes: growth hormone (*GH*, L127V) and its receptor (*GHR*, S555G), diacylglycerol acyltransferase (*DGAT1*, K232A), prolactin (*PRL*, g.35108342 A>G) and kappa-casein (*CSN3*, Ile136Thr and Ala148Asp), stearoyl-CoA desaturase (*SCD*, A293V) retinoic acid C-receptor (*RORC*, g.3984A>G), stearoyl-CoA desaturase (*SCD*, A293V), leptin (*Lep*, Y7F) and its receptor *LepR*, T945M) as described [3–6]. Population genetic analysis was performed using GenAlEx v.6.5 and STRUCTURE 2.3.4 software. Associative analysis of milk productivity traits (milk yield (kg), fat content (%), and fat yield (kg)) of daughters, totaling over 950, was conducted in relation to the genotypes of their fathers, the sire bulls, in STATISTICA 10 software.

Results: In the analyzed samples, no significant deviation was detected in the distribution of observed genotype frequencies from their distribution according to Hardy–Weinberg equilibrium. Differentiation of the samples from each other was identified for the *CSN3*, *DGAT1* and *LepR* gene markers based on the provided probability values for G_{ST} values (Table 1) and considering the Benjamini–Hochberg correction for multiple comparisons [7]. The level of differentiation based on a complex of markers using Wright's fixation index (F_{ST}) was 2.1 % ($P < 0.05$). Both methods used, principal coordinate analysis (GenAlEx v.6.503) and cluster analysis (STRUCTURE 2.3),

indicate slightly greater variability in the bull sample compared to the cows. The first principal axes account for 35 % of the variability, distributed approximately equally. Cluster analysis revealed the presence of two identical clusters in both samples, with a significant predominance (70 %) in the bull cluster, exhibiting significant differences among individuals, as opposed to cows, where its share is no more than 30 %. Analysis of associations of the studied SNPs in bulls with productive traits of daughters revealed significant dependencies ($P < 0.05$) of fat content (%) and fat yield (kg), milk yield (kg) on genotypes of *SCD* gene and fat content (%) on *CSN3* gene.

Table 1. Values of the G_{ST} coefficient and their probability

Locus	<i>CSN3</i>	<i>PRL</i>	<i>GH</i>	<i>DGATI</i>	<i>SCD</i>	<i>RORC(A)</i>	<i>GHR</i>	<i>Lep</i>	<i>LepR</i>	Tot
<i>Gst</i>	0.016	−0.002	−0.002	0.044	0.007	−0.002	−0.002	0.006	0.034	0.011
<i>P</i>	0.006	0.748	0.627	0.001	0.039	0.957	0.663	0.067	0.001	0.001

Conclusion: Frequency characteristics of the studied SNPs of candidate genes in samples of both sexes of the Kostroma cattle breed were determined. Since it is effective in selection to use alleles with frequency of more than 5 %, we note that alleles of the majority of markers have exceeded this threshold, except for the *T*-allele of *Lep* (Y7F) gene in cows (0.03), which does not exclude the possibility of using these markers in selection for productive traits, as the frequency of this allele in bulls is 0.07. In the Kostroma breed, the established associative relationships of markers of *SCD* (A293V) and *CSN3* (Ile136Thr and Ala148Asp) genes with quantitative traits of milk productivity of the daughters of the studied bulls can be taken into account along with the methods of traditional breeding, both when using semen of the studied bulls for insemination with cows of unknown genotype and for forming pairs of animals with known genotypes in crossbreeding to obtain offspring with more pronounced traits.

Funding: The study is supported by Government program of basic research in Koltzov Institute of Developmental Biology of the Russian Academy of Sciences No. 0088-2024-0011 and Miklukho-Maklai Institute of Ethnology and Anthropology of the Russian Academy of Sciences No. 1023032600025-8-6.1.1 # 5 in 2024.

Список литературы/References

1. Dekkers J.C. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *J Anim Sci.* 2004;82 E-Suppl:E313-328. doi 10.2527/2004.8213_supplE313x

2. Yudin N.S., Voevoda M.I. Molecular genetic markers of economically important traits in dairy cattle. *Russ J Genet.* 2015;51:506-517. doi 10.1134/S1022795415050087

3. Avilés C., Polvillo O., Peña F., Juárez M., Martínez A.L., Molina A. Associations between *DGAT1*, *FABP4*, *LEP*, *RORC*, and *SCD1* gene polymorphisms and fat deposition in Spanish commercial beef. *J Anim Sci.* 2013;91(10):4571-4577. doi 10.2527/jas.2013-6402

4. Lazebnaya I.V., Perchun A.V., Lhasaranov B.B., Lazebny O.E., Stolpovskiy Y.A. Analysis of *GH1*, *GHR* and *PRL* gene polymorphisms for estimation of the genetic diversity of Buryat and Altai cattle breeds. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii*=*Vavilov Journal of Genetics* 2018;22:734-741. doi 10.18699/VJ18.417

5. Gorlov I.F., Fedunin A.A., Randelin D.A., Sulimova G.E. Polymorphisms of *bGH*, *RORC*, and *DGAT1* genes in Russian beef cattle breeds. *Russ J Genet.* 2014;50:1302-1307. doi 10.1134/S1022795414120035

6. Сулимова Г.Е., Лазебная И.В., Перчун А.В. и др. Уникальность костромской породы крупного рогатого скота с позиции молекулярной генетики *Достижения науки и техники АПК.* 2011;9:52-54 [Sulimova G.E., Lazebnaya I.V., Perchun A.V., Voronkova V.N., Ruzina M.N., Badin G.A Uniqueness of Kostroma breed of cattle from a position of molecular genetics. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK.* 2011;9:52-54 (in Russia)]

7. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc B Stat Methodol.* 1990;V(557):289-300. doi 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x