

Научная статья  
УДК 636.2.034  
doi: 10.28983/asj.y2024i12pp143-148

### Ген LEP (сайт A80V) у коров холмогорской породы и продолжительность их хозяйственного использования

Наталья Александровна Худякова, Алёна Андреевна Кондакова, Андрей Сергеевич Кашин,  
Александра Олеговна Ступина, Инга Андреевна Классен, Ирина Сергеевна Кожевникова,  
Мария Сергеевна Калмыкова

Федеральный центр комплексного исследования Арктики Уральского отделения Российской академии наук, г. Архангельск, Россия, e-mail: labinnovrazv@yandex.ru

**Аннотация.** Увеличение срока использования коров с высокими показателями производительности может способствовать повышению прибыльности производства молочной продукции, увеличению количества телят, обладающих желаемыми характеристиками, а также снижению частоты выбытия коров из основного стада. На длительность использования животных в хозяйственных целях, помимо внешних факторов, оказывают влияние генетические факторы, включая ген лептина. Данный ген синтезируется жировыми клетками и участвует в регуляции пищевого поведения, обмене веществ, а также оказывает влияние на репродуктивную функцию и иммунную систему животных. Исследования выявили влияние полиморфизма A80V третьего экзона гена лептина (LEP) на продолжительность использования крупного рогатого скота в хозяйственных целях. Полиморфизм в локусе LEP-A80V оказывает значительное воздействие на срок продуктивного периода и экономическую эффективность использования животных. Результаты исследований показали более высокую частоту встречаемости генотипов AA и AV по сравнению с генотипом VV на сайте A80V. Целью данного исследования являлось определение аллельного разнообразия локуса A80V гена LEP у коров АО «Племзавод «Холмогорский», выбывших по различным причинам. Для этого была сформирована выборка выбывших коров (88 голов), генотипированных нами ранее. В результате статистической обработки результатов генотипирования выявлено доминирование A-аллеля (91%) и AA-генотипа (82,95 %) в данной выборке коров; V-аллель (9 %), AV-генотип (15,91 %), VV-генотип (1,14 %) встречались реже. Математически доказано, что коровы с генотипом AV отличаются большей продолжительностью хозяйственного использования, чем коровы с генотипом AA.

**Ключевые слова:** лептин; молочное скотоводство; продуктивное долголетие; холмогорская порода; крупный рогатый скот

**Для цитирования:** Худякова Н. А., Кондакова А. А., Кашин А. С., Ступина А. О., Классен И. А., Кожевникова И. С., Калмыкова М. С. Ген LEP (сайт A80V) у коров холмогорской породы и продолжительность их хозяйственного использования // Аграрный научный журнал. 2024. № 12. С. 133–148. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i12pp143-148>.

ZOOTECHNICS AND VETERINARY MEDICINE

Original article

### The LEP gene (site A80V) in Kholmogorsky cows and the duration of their economic use

Natalia A. Khudyakova, Alyona A. Kondakova, Andrey S. Kashin, Alexandra O. Stupina,  
Inga A. Klassen, Irina S. Kozhevnikova, Maria S. Kalmykova

Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russia, e-mail: labinnovrazv@yandex.ru





**Abstract.** Increasing the life of cows with high productivity indicators can help increase the profitability of dairy production, increase the number of calves with desired characteristics, as well as reduce the frequency of cow abandonment from the main herd. In addition to external factors, genetic factors, including the leptin gene, influence the duration of the use of animals for economic purposes. This gene is synthesized by fat cells and is involved in the regulation of eating behavior, metabolism, and also affects the reproductive function and immune system of animals. Studies have revealed the effect of the A80V polymorphism of the third exon of the leptin gene on the duration of use of cattle for household purposes. Polymorphism at the LEP-A80V locus has a significant impact on the duration of the productive period and the economic efficiency of animal use. The results of the studies showed a higher frequency of occurrence of the AA and AV genotypes compared to the VV genotype on the A80V site. The purpose of this study was to determine the allelic diversity of the A80V locus of the LEP gene in cows of JSC “Kholmogorsky Stud Farm” that were dropped out for various reasons. To achieve this goal, a sample of retired cows (88 heads) was formed, which we had previously genotyped. As a result of statistical processing of the genotyping results, the dominance of the A-allele (91%) and AA-genotype (82.95%) in this sample of cows was revealed, V-allele (9%), AV-genotype (15.91%), VV-genotype (1.14%) were less common. It is also mathematically proven that cows with the AV genotype have a longer duration of economic use than cows with the AA genotype.

**Keywords:** leptin; dairy cattle breeding; productive longevity; Kholmogorsky breed; cattle

**For citation:** Khudyakova N. A., Kondakova A. A., Kashin A. S., Stupina A. O., Klassen I. A., Kozhevnikova I. S., Kalmykova M. S. The LEP gene (site A80V) in Kholmogorsky cows and the duration of their economic use. *Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal*. 2024;(12):133–148. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i12pp143-148>.

**Введение.** Эффективность и рентабельность ведения отрасли молочного скотоводства зависит не только от уровня удоев, показателей жира и белка в молоке, качественного кормления и содержания животных, но и от продолжительности срока хозяйственного использования коров. Для крупного рогатого скота продуктивное долголетие измеряется возрастом в отелах. При успешном ведении хозяйства возможны 8–10 отелов и более. Как следствие, наиболее ценными являются высокопродуктивные коровы с длительным сроком хозяйственного использования, стабильной рождаемостью телят, высоким уровнем резистентности к инфекционным заболеваниям [5]. Например, средний возраст коров на сельскохозяйственных предприятиях Архангельской области в 2022 г. составил 2,6 отела, в 2018–2021 гг. – 2,8 отела [1, 9]. При снижении среднего возраста коров до 2,0–2,5 отела нарушается цикл смены поколений, так как матери выбывают из стада раньше, чем отелятся их дочери [7].

Повышение продолжительности хозяйственного использования коров с высокими показателями продуктивности позволит повысить рентабельность производства молочной продукции, увеличить выход телят с желательными продуктивными качествами, снизить частоту выбытия коров из основного стада. На продолжительность хозяйственного использования оказывают влияние не только паратипические, но и генетические факторы, в частности ген лептина [4].

Пептидный гормон лептин по структуре представляет собой протеин, имеющий в своем составе 167 аминокислот и 21 сигнальную аминокислотную последовательность. Данный ген продуцируется адипоцитами жировой ткани и участвует в регуляции пищевого поведения, обмене веществ, влияет на репродуктивную функцию и иммунную систему животного [6].

Множественное действие гена лептина объясняется влиянием продуктов его экспрессии на разные биохимические реакции или взаимодействием самого гена с продуктами экспрессии других генов. В частности, механизм действия лептина как сигнального цитокина состоит в передаче в гипоталамус информации о массе тела и жировом обмене. Взаимодействие лептина со специфическими рецепторами, расположенными в гипоталамической области, активирует выработку нервных импульсов, направленных в участки головного мозга, ответственные за регуляцию аппетита [3]. Кроме того, лептин стимулирует симпатическую нервную систему и, как следствие, ведет к повышению артериального давления, частоты сердечных сокращений и процессов термогенеза, путем разобщения процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях белой жировой ткани. В резуль-

тате этого значительное количество энергии, запасаемое в жировой ткани, преобразуется в тепло. Лептин также называют гормоном насыщения. Считается, что он действует на гипоталамус, блокируя синтез и высвобождение нейропептида Y, вызывающего чувство голода [2].

Современные методы молекулярно-генетических исследований позволяют изучать гены, коррелирующие с хозяйственно полезными признаками у крупного рогатого скота. Потенциальными маркерами хозяйственно полезных признаков и продолжительности хозяйственного использования являются полиморфизмы гена LEP сайтов A80V, Y7F и R25C [3, 8]. Для нас представляет интерес сайт A80V, оказывающий влияние на продолжительность хозяйственного использования коров, от которой во многом зависит рентабельность молочного скотоводства [4, 10].

Цель исследования – изучить полиморфизм локуса A80V гена LEP и его ассоциации генотипов сайта A80V с продолжительностью хозяйственного использования коров холмогорской породы.

**Материалы и методы.** Объект исследования – коровы холмогорской породы (88 голов), содержащиеся в АО «Холмогорский «Племзавод», и выбывшие из стада в 2023 г. по различным причинам. Изучали венозную кровь, которую брали из яремной вены в вакуумные пробирки с ЭДТА К3. Выделение ДНК проводили при помощи набора реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического материала животных и продуктов питания животного происхождения «МагноПрайм ВЕТ» (производитель «НекстБио», Россия).

Для определения аллелей А и V локуса A80V гена LEP использовали метод ПЦР-ПДРФ. Реакционная смесь для амплификации имела следующий состав: 5×ПЦР буфер (+MgCl<sub>2</sub>) – 5,0 мкл, 50×смесь dNTP – 0,5 мкл. Прямой праймер (Евроген, 10 мкМ) с последовательностью CAAGCAGGAAATAGGGAGTCATGG – 1,0 мкл, обратный праймер (Евроген, 10 мкМ) с последовательностью CTGGTGAGGATCTGTTGGTAGGTC – 1,0 мкл, ДНК-матрица – 2,0, HS-Taq DNA-полимераза 5 ед. акт./мкл – 0,5 мкл, стерильная вода – 15,0 мкл. В таблице 1 представлен протокол температурных режимов циклов ПЦР.

Таблица 1 – Процедура амплификации с горячим стартом

Table 1 – Hot-start amplification procedure

Стадия	Режим	Повторность
Первичная денатурация	3 мин при 95 °С	1
Денатурация	30 с при 95 °С	32
Отжиг	30 с при 67 °С	
Элонгация	30 с при 72 °С	
Заключительная элонгация	7 мин при 72 °С	1

Состав реакционной смеси на основе набора эндонуклеазы рестрикции PspE I (SibEnzyme), использовавшийся для проведения рестрикции: 10× SE-буфер В – 2,0 мкл, эндонуклеаза рестрикции PspE I, 10000 е.а./мл – 1,0 мкл, амплификат ДНК-матрицы – 8,0 мкл, стерильная вода – 9,0 мкл.

Для определения длин фрагментов ДНК, полученных в ходе рестрикций, проводили электрофорез в 2%-м агарозном геле в течение 4 ч при 100 В. Частоту встречаемости генотипов рассчитывали согласно Е. К. Меркурьевой (1983) по формуле (1):

$$P = \frac{n}{N}, \quad (1)$$

где P – частота определенного генотипа; n – количество животных, имеющих определенный генотип; N – общее число животных.

Частоту отдельных аллелей определяли по формулам (2, 3):

$$P_A = \frac{(2n_{AA} + n_{AV})}{2N}, \quad (2)$$



$$QV = \frac{(2nVV + nAV)}{2N}, \quad (3)$$

где  $PA$  – частота аллеля  $A$ ;  $QV$  – частота аллеля  $V$ ,  $nAA$ ,  $nAV$ ,  $nVV$  – количество животных с определенным генотипом;  $N$  – общее число животных.

Для оценки статистической значимости различий между двумя независимыми выборками животных, имеющих разные генотипы, и возраста выбытия в отелах использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Различия считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты исследований.** В ходе статистической обработки данных были рассчитаны наблюдаемое и ожидаемое распределения генотипов и аллелей локуса  $A80V$  гена  $LEP$  у 88 выбывших коров (таблица 2).

Таблица 2 – Полиморфизм локуса  $A80V$  гена  $LEP$  у выбывших коров холмогорской породы

Table 2 – Polymorphism of the  $A80V$  locus of the  $LEP$  gene in retired cows of the Kholmogorsky breed

Показатель	n	Частота встречаемости генотипов						Частота встречаемости аллелей, %		$\chi^2$
		AA		AV		VV		A	V	
		n	%	n	%	n	%			
Наблюдаемое распределение	88	73	82,95	14	15,91	1	1,14	91,00	9,00	0,14
Ожидаемое распределение		72,70	82,60	14,50	16,50	0,70	0,80			

Исследование показало доминирующую позицию аллеля  $A$ , его частота встречаемости составила 91,00 %, следовательно аллель  $V$  встречается у 9,00 % коров в стаде. Наблюдаемая частота встречаемости преобладающего генотипа  $AA$  составила 82,95 % ( $n = 73$ ), 15,91 % выборки составили животные с генотипом  $AV$ , носителем генотипа  $VV$  стала одна корова. Ожидаемое распределение минимально отличалось от наблюдаемого, что свидетельствовало о преобладании системы случайного скрещивания. Смещение генетического равновесия отсутствовало.

Также нами было проанализировано процентное соотношение причин выбытия в исследуемой выборке животных. Полученные данные представлены на рисунке 1.

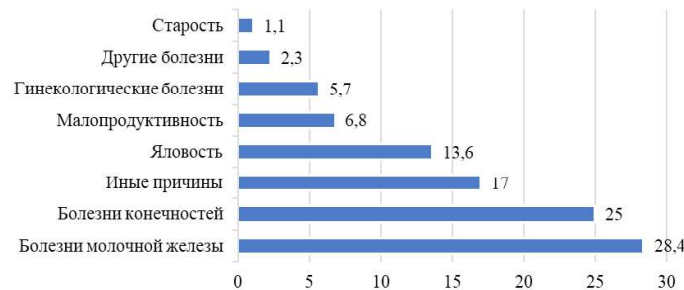


Рисунок 1 – Соотношение причин выбытия в исследуемой выборке животных ( $n = 88$ ), %

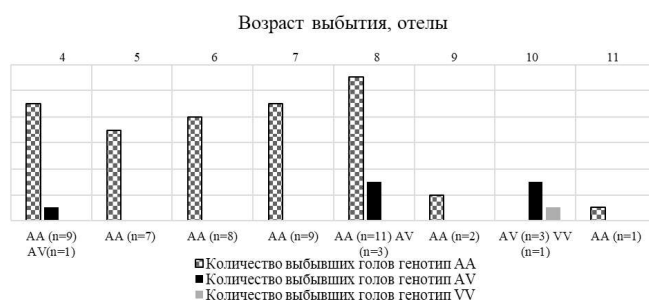
Figure 1 – The ratio of the causes of attrition in the studied sample of animals ( $n = 88$ ), %

Наиболее частая причина выбытия коров – болезни молочной железы (28,4 %) и болезни конечностей (25 %). Возможно, причиной этого стал привязной тип содержания стада. Наиболее редкой причиной выбытия была старость. Из 88 выбывших животных 33 коровы были в возрасте от 1 до 3 отелов. В этой выборке животных было установлено процентное соотношение по причинам выбытия независимо от генотипа: преимущественно из-за гинекологических болезней – 30,3 %, из-за болезней конечностей – 12,1 % стада.

Из исследуемой выборки общего поголовья животных были выбраны коровы-долгожители (55 голов), выбывшие после 4-го отела и более. Математический анализ наблюдаемого распределения генотипов и аллелей локуса  $A80V$  показал частоту встречаемости аллеля  $A$  – 0,92, частота встречаемости аллеля  $V$  – 0,08. Количество животных с генотипом  $AA$  – 47 гол. (85,45 %), с генотипом  $AV$  – 7 гол. (2,73 %) и с генотипом  $VV$  – 1 гол. (1,82 %). Ожидаемое распределение генотипов:  $AA$  – 84,3 % ( $n = 46,4$ ),  $AV$  – 15,0 % ( $n = 8,3$ ),  $VV$  – 0,7 % ( $n = 0,4$ ), что свидетельствовало о преобладании системы случайного скрещивания. Отмечали отсутствие смещения генетического равновесия ( $\chi^2 = 2,3383$ ).



На рисунке 2 показано соотношение выбывших коров генотипов AA и AV и их возраста в отелах.



**Рисунок 2 – Соотношение выбывших коров генотипов AA и AV и их возраста в отелах**

**Figure 2 – The ratio of retired cows of the AA and AV genotypes and their age in calving**

Среди 47 голов крупного рогатого скота наиболее часто выбывали носительницы генотипа AA на 8-м отеле (11 гол.). Из 7 голов крупного рогатого скота с генотипом AV чаще всего выбывали коровы на 8-м и 10-м отелах (3 гол.). Единственная корова с генотипом VV выбыла в возрасте 10-го отела.

У долгожителей, распределенных на 2 группы по генотипам (AA и AV), был рассчитан средний возраст выбытия. Данные представлены в таблице 3.

**Таблица 3 – Расчеты средних значений возраста в отелах для выборки из 55 голов с различными генотипами, Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>)**

**Table 3 – Calculations of average age values in calving for a sample of 55 heads with different genotypes, Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>)**

Генотип	AA	AV
Среднее значение возраста в отелах	6,00 (5,00; 8,00)*	8,00 (8,00; 10,00)*

\*  $p \leq 0,05$  – достоверные различия

Расчет показал, что животные с генотипом AV в среднем живут на два отела дольше по сравнению с коровами с генотипом AA, что противоречит результатам других исследователей. По данным J. Szyda et al., у животных, имеющих генотип VV, риск выбывания в 1,83 раза больше. Н. В. Ковалюк с соавторами установили, что аллель A ассоциирован с более продолжительным сроком хозяйственного использования животных. Таким образом, необходимо продолжить изучение влияния генотипов A80V гена LEP [5, 11].

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что коровы, имевшие генотип AV и возраст выбытия 8 отелов, отличались наиболее длительным продуктивным долголетием, чем коровы с генотипом AA, средний возраст которых составил 6 отелов. Чаще всего животные выбывают по таким причинам, как болезни конечностей и болезни молочной железы, что может быть связано с привязным типом содержания коров в хозяйстве.

Полученные нами данные позволяют предполагать, что наличие аллеля V коррелирует с увеличением срока продуктивного долголетия животного. Однако для сравнения коров с генотипами AA, AV и VV необходимы большая выборка животных, а также дальнейшие более глубокие исследования.

*Статья подготовлена в рамках выполнения темы государственного задания ФГБУН ФИЦ-КИА УрО РАН «Молекулярно-генетическая оценка сельскохозяйственных животных по селекционным и хозяйственно-полезным признакам в условиях арктических и субарктических территорий РФ» (FUUW-2024-0006).*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ассоциация полиморфизма гена лептина с хозяйственно полезными признаками крупного рогатого скота чёрно-пёстрой породы / М. А. Парамонова [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2023. Т. 99. № 1. С. 277–283.



2. Влияние аллелей, связанных с высоким удоем, на молочную продуктивность стада / В. Ф. Гридин [и др.] // Актуальные проблемы растениеводства, животноводства и ветеринарной медицины. Биологические, ветеринарные, сельскохозяйственные, зоотехнические, экологические науки: материалы Междунар. науч.-практ. конф. Екатеринбург, 2017. С. 100–103.
3. Влияние полиморфизма гена лептина на хозяйственные признаки крупного рогатого скота / А. А. Ярышкин [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2022. Т. 93. № 1. С. 260–264.
4. Гинтов В. В., Кожевникова И. С., Худякова Н. А. Инновационное направление повышения рентабельности молочного скотоводства в хозяйствах Архангельской области // АПК: экономика, управление. 2022. № 10. С. 76–80.
5. Использование полиморфизма локуса LEP в селекции черно-пестрого скота / Н. В. Ковалюк [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. 2017. № 3. С. 14–16.
6. Полиморфизм аллелей гена LEP у субпопуляции крупного рогатого скота айрширской породы / Н. В. Ковалюк [и др.] // Генетика. 2015. Т. 51. № 2. С. 266–270.
7. Петрова М. Ю., Новикова Н. Н., Косарева Н. А. Увеличение продуктивного долголетия красной степной породы крупного рогатого скота // Вестник КрасГАУ. 2021. № 4. С. 93–98.
8. Связь полиморфизма гена лептина (LEP) с хозяйственно полезными признаками крупного рогатого скота / П. О. Щеголев [и др.] // Аграрный вестник Нечерноземья. 2021. № 1. С. 25–32.
9. Худякова Н. А., Кондакова А. А., Кашин А. С. Продуктивное долголетие коров холмогорской породы // II Лавёровские чтения. Арктика: актуальные проблемы и вызовы: материалы Всерос. конф. с междунар. участием. Архангельск, 13–17 ноября 2023. Архангельск, 2023. С. 942–945.
10. Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein Friesian dairy cattle sires / L. Giblin, S. T. Butler, B. M. Kearney, S. M. Waters, M. J. Callanan, D. P. Berry // BMC Genetics. 2010. No. 11. P. 73.
11. Evaluation markers in selected genes for association with functional longevity of dairy cattle / J. Szyda, M. Morek-Kopec, J. Komisarek, A. Zarnecki // BMC Genetics. 2011. No. 30. P. 1–7.

## REFERENCES

1. Association of leptin gene polymorphism with economically useful signs of black-and-white cattle / M. A. Paramonova, F. R. Valitov, I. N. Ganieva, T. V. Kononenko. *Izvestiya Orenburg State Agrarian University*. 2023;99(1):277–283. (In Russ.).
2. The influence of alleles associated with high milk yield on the dairy productivity of the herd / V. F. Gridin, R. V. Manoilov, K. V. Novitskaya, I. A. Puzanova. Actual problems of crop production, animal husbandry and veterinary medicine. Biological, veterinary, agricultural, zootechnical, environmental sciences: Collection of materials of the international scientific and practical conference. Yekaterinburg; 2017. P. 100–103. (In Russ.).
3. The effect of leptin gene polymorphism on the economic characteristics of cattle / A. A. Yaryshkin, O. S. Shatalina, O. I. Leshonok, N. V. Kovalyuk. *Proceedings of the Orenburg State Agrarian University*. 2022;93(1):260–264. (In Russ.).
4. Gintov V. V., Kozhevnikova I. S., Khudyakova N. A. Innovative direction of increasing the profitability of dairy cattle breeding in the farms of the Arkhangelsk region. *Agroindustrial Complex: Economics, Management*. 2022;(10):76–80. (In Russ.).
5. The use of polymorphism of the LEP locus in breeding of black-and-white cattle / N. V. Kovalyuk, V. F. Satsuk, E. V. Machulskaya, N. A. Morkovkina, Yu. Yu. Shakhnazarova. *Dairy and Meat Cattle Breeding*. 2017;(3):14–16. (In Russ.).
6. Polymorphism of alleles of the LEP gene in a subpopulation of Ayrshire cattle / N. V. Kovalyuk, V. F. Satsuk, A. E. Volchenko, E. V. Machulskaya. *Genetics*. 2015;51(2):266–270. (In Russ.).
7. Petrova M. Yu., Novikova N. N., Kosareva N. A. Increasing the productive longevity of the red steppe cattle breed. *Bulletin of KrasGAU*. 2021;(4):93–98. (In Russ.).
8. Connection of leptin gene polymorphism (LEP) with economically useful signs of cattle / P. O. Shchegolev, K. D. Sabetova, A. A. Chaitsky, A. Sorokina. *Agrarian Bulletin of the Non-Chernozem Region*. 2021;(1):25–32. (In Russ.).
9. Khudyakova N. A., Kondakova A. A., Kashin A. S. Productive longevity of cows of the Kholmogorsky breed // II Laver readings. Arctic: actual problems and challenges: Collection of scientific materials of the All-Russian conference with international participation, Arkhangelsk, November 13–17, 2023. Arkhangelsk; 2023. P. 942–945. (In Russ.).
10. Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein Friesian dairy cattle sires / L. Giblin, S. T. Butler, B. M. Kearney, S. M. Waters, M. J. Callanan, D. P. Berry. *BMC Genetics*. 2010;(11):73.
11. Evaluation markers in selected genes for association with functional longevity of dairy cattle / J. Szyda, M. Morek-Kopec, J. Komisarek, A. Zarnecki. *BMC Genetics*. 2011;(30): 1–7.

Статья поступила в редакцию 24.04.2024; одобрена после рецензирования 27.05.2024; принята к публикации 30.05.2024.  
The article was submitted 24.04.2024; approved after reviewing 27.05.2024; accepted for publication 30.05.2024.

