Związek polimorfizmu genu laktoferyny z wydajnością mleka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej

Grażyna Sender[1], Maria Dymnicka[2], Agnieszka Korwin-Kossakowska[1], Barbara Gralak[1], Ewa Arkuszewska[2], Andrzej Łozicki[2]

[1]Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu,
ul. Postępu 1, 05-552 Wólka Kosowska, g.sender@ighz.pl
[2]Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej,
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, kzzgp@sggw.pl

Celem badań było zbadanie zależności pomiędzy genotypami laktoferyny a wydajnością mleka u krów mlecznych. Analizę statystyczną badanego materiału przeprowadzono na 516 krowach utrzymywanych w trzech stadach. Wykorzystano wyniki dziennej wydajności mleka pochodzące z kontroli użytkowości mlecznej badanych zwierząt. Polimorfizm genu laktoferyny zidentyfikowano metoda PCR-RFLP. W badanym materiale frekwencja alleli A i B wyniosła, odpowiednio: 0,81 i 0,19. Krowy z genotypem AA laktoferyny charakteryzowały się istotnie (P≤0,01) wyższą wydajnością mleka w porównaniu do pozostałych zwierząt. Najniższą wydajność mleka stwierdzono u krów z genotypem BB. Można stwierdzić, że genotyp BB laktoferyny, charakterystyczny dla krów z najniższą liczbą komórek somatycznych w mleku, a więc mniej podatnych na zapalenie wymienia, jest niekorzystnie powiązany z wydajnością mleka.

SŁOWA KLUCZOWE: wydajność mleka / bydło / gen laktoferyny

Zapalenie wymienia jest chorobą bydła mlecznego przynoszącą w hodowli największe straty spośród wszystkich chorób bydła. Choroba ta jest trudna do wyeliminowania metodami weterynaryjnymi. Wiadomo jednakże, że istnieją genetyczne różnice w podatności krów na tę chorobę [6]. Przypuszcza się, że występowanie zapalenia wymienia zależy od wielu genów. Identyfikacja tych genów pozwoli zwiększyć efektywność selekcji bydła mlecznego w kierunku poprawy zdrowia wymienia, poprzez prowadzenie selekcji wspomaganej markerami genetycznymi. We wcześniejszych badaniach stwierdzono związek polimorfizmu genu laktoferyny z podatnością krów na zapalenie wymienia [3, 4]. Gen laktoferyny może być rozpatrywany u krów mlecznych jako potencjalny marker mastitis. Rozważając przydatność laktoferyny, jako genu kandydującego podatności na zapalenie wymienia, niezbędne jest zbadanie związku

alleli tego genu z cechami produkcyjnymi, będącymi przedmiotem selekcji krów mlecznych.

Celem badań było zbadanie zależności pomiędzy genotypami laktoferyny a wydajnością mleka u krów mlecznych.

Materiał i metody

Badaniami objęto 516 krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, utrzymywanych w trzech stadach (A, B, C). Badaną cechą produkcyjną krów mlecznych była dzienna wydajność mleka, której wyniki pochodziły z kontroli użytkowości mlecznej. Przeanalizowano 10 196 wyników dotyczących wydajności mleka. Polimorfizm genu laktoferyny oznaczono w próbkach DNA, wyizolowanego z leukocytów krwi badanych zwierząt. Polimorfizm genu laktoferyny określono metodą RFLP-PCR [3]. W metodzie tej, w reakcji PCR zastosowano dwa startery [5] pozwalające na amplifikacje fragmentu w intronie 6 o długości 301 par zasad. Znaleziono miejsce restrykcyjne identyfikowane przez enzym EcoR1. Allel A nie jest trawiony przez enzym EcoR1, natomiast allel B jest cięty na dwa fragmenty o długości 201 i 100 par zasad.

Zależności pomiędzy genotypami laktoferyny a wydajnością mleka u krów mlecznych oszacowano używając procedury GLM w programie SAS. W analizie wariancji dziennej wydajności mleka uwzględniono wpływ: genotypu laktoferyny, stada, interakcji stado x genotyp, powtarzalności wyników w obrębie zwierzęcia zagnieżdżonej w interakcji stado x genotyp, kolejnej laktacji (laktacje powyżej 6 włączono do laktacji 6), miesiąca i roku pobrania próby oraz regresji na dni laktacji. Istotność różnic pomiędzy poziomem wydajności mleka w grupach krów, reprezentujących różne genotypy laktoferyny oszacowano za pomocą testu wielokrotnego rozstępu Duncana.

Wyniki i dyskusja

W badanej populacji allel A laktoferyny występował ponad czterokrotnie częściej niż allel B, częstość alleli wynosiła, odpowiednio: 0,81 i 0,19. We wcześniejszych badaniach stwierdzono, że krowy z genotypem BB laktoferyny charakteryzowały się najniższą liczbą komórek somatycznych w mleku, istotnie ($P \leq 0,01$) niższą niż krowy z genotypem AA i AB. Najwyższą liczbę komórek somatycznych miały krowy z genotypem AA laktoferyny [4]. Wyniki te wskazują na możliwość wykorzystania genu laktoferyny jako genetycznego markera mastitis u krów mlecznych. Rozważając przydatność genu laktoferyny w selekcji krów mniej podatnych na zapalenie wymienia, niezbędne jest zbadanie związku alleli tego genu z cechami produkcyjnymi bydła mlecznego.

W badanym materiale stwierdzono najwyższą dzienną wydajność mleka u krów z genotypem AA laktoferyny. Krowy te różniły się istotnie ($P \leq 0,01$) pod względem wydajności od krów z genotypem AB i BB laktoferyny (tab. 1). Może to tłumaczyć, do pewnego stopnia, niewielką częstość genotypu BB w populacji, osiągniętą prawdopodobnie na skutek prowadzenia wieloletniej selekcji krów mlecznych na wzrost wydaj-

Tabela 1 – Table 1
Związek wydajności mleka z genotypem laktoferyny (średnie najmniejszych kwadratów, ± Se)
Relationship between milk production (least square mean, ± Se) and lactoferrin genotype

Genotyp laktoferyny Lactoferrin genotype	Liczba krów Number of cows	Wydajność mleka Milk yield (kg)	
		LSM	Se
AA	320	$29,31^{AB}$	0,90
BB	26	$27,85^{A}$	0,83
AB	170	$28,27^{B}$	0,81

A, B – średnie oznaczone tą samą literą różnią się od siebie istotnie (P≤0,01) – means marked with the same letter differ significantly (P≤0.01)

ności mleka. Analiza związku dziennej wydajności mleka z genotypem laktoferyny została przeprowadzona również w poszczególnych stadach, ponieważ stwierdzono istotny wpływ stada na wydajność. W stadzie B i C najwyższą wydajność mleka stwierdzono u krów z genotypem AA laktoferyny, natomiast w stadzie A u krów z genotypem BB (tab. 2). Należy podkreślić, że w stadzie A tylko 3 krowy miały genotyp BB laktoferyny, natomiast krowy w stadzie B charakteryzowały się istotne (P≤0,01) wyższą, niż w pozostałych stadach, dzienną wydajnością mleka.

Wyniki dotyczące związku polimorfizmu laktoferyny z wydajnością mleka wydają

Tabela 2 – Table 2
Związek wydajności mleka z genotypem laktoferyny w zależności od stada (średnie najmniejszych kwadratów, ±Se)
Relationship between lactoferrin genotype and milk production in different herds (least square mean, ±Se)

Genotyp laktoferyny Lactoferrin genotype	Stado A – Herd A			Stado B – Herd B			Stado C – Herd C		
	n	LSM	Se	n	LSM	Se	n	LSM	Se
AA	17	$22,03^{A}$	0,52	213	$35,90^{A}$	0,76	90	$22,72^{AB}$	1,05
BB	3	$26,91^{AB}$	0,91	9	$35,81^{B}$	0,89	14	$19,87^{AC}$	0,85
AB	17	$22,60^{B}$	0,74	81	$34,64^{AB}$	0,72	72	$21,89^{BC}$	1,02

A, B, C – średnie oznaczone tą samą literą różnią się od siebie istotnie (P≤0,01) – means marked with the same letter differ significantly (P≤0,01)
n – liczba krów – number of cows

się zależeć bardziej od liczebności krów w stadzie niż od poziomu wydajności mleka w stadzie. Należy traktować je jako wstępne, wymagające potwierdzenia na większym materiale z zastosowaniem bardziej precyzyjnych metod statystycznych. Badaniem związku polimorfizmu genu laktoferyny z wydajnością mleka zajmowali się również Kamiński i wsp. [1] oraz Li i wsp. [2], jednak w pracach tych analizowano inne allele

tego genu. Li i współpracownicy [2] nie znaleźli związku pomiędzy polimorfizmem tego genu a wydajnością mleka, głównie z powodu zbyt małej liczebności badanej populacji zwierząt. Natomiast Kamiński i wsp. [1] stwierdzili istotny związek pomiędzy polimorfizmem w promotorze tego genu a wydajnością i procentem białka w mleku. Różnice dotyczące wydajności mleka były nieistotne.

W badanym materiale frekwencja alleli A i B wyniosła, odpowiednio: 0,81 i 0,19. Krowy z genotypem AA laktoferyny charakteryzowały się istotnie ($P \leq 0,01$) wyższą wydajnością mleka w porównaniu do pozostałych zwierząt. Najniższą wydajność mleka stwierdzono u krów z genotypem BB. Można stwierdzić, że genotyp BB laktoferyny charakterystyczny dla krów z najniższą liczbą komórek somatycznych w mleku, a więc mniej podatnych na zapalenie wymienia jest niekorzystnie powiązany z wydajnością mleka.

PIŚMIENNICTWO

1. KAMIŃSKI S., OLEŃSKI K., BRYM P., MALEWSKI T., SAZANOW A.A. 2006 – Single nucleotide polymorphism in the promoter region of the lactoferrin gene and its association with milk performance traits in Polish Holstein-Friesian cows. ***Russian Journal of Genetics*** 42, (8), 924-927.
2. LI G., ZHANG Y., SUN D., LI N., 2004 – Study on the polymorphism of bovine lactoferrin gene and its relationship with mastitis. ***Anim. Biotechnol.*** 16 (1) 67-76.
3. SENDER G., KORWIN-KOSSAKOWSKA A., HAMEID K.G.A., PRUSAK B., 2006 – Ocena wpływu polimorfizmu wybranych genów na występowanie mastitis u krów. ***Medycyna Weterynaryjna*** 62 (5), 563-565.
4. SENDER G., HAMEID K.G.A., KORWIN-KOSSAKOWSKA A., 2007 – Wykorzystanie markerów genetycznych w programie zwalczania mastitis. ***Roczniki Naukowe Zootechniki***, Supl. 23, 77-80.
5. SEYFERT H.M., KUHN C., 1994 – Characterization on a first bovine lactoferrin gene variant, based on an EcoRI polymorphism. ***Animal Genetics*** 25, 54.
6. SHARIF S., MALLARD B.A., WILKIE B.N., SARGEANT J.M., SCOTT H.M., DEKKERS J.C.M., LESLIE K.E., 1998 – Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with production traits in Canadian dairy cattle. ***Animal Genetics*** 30, 157-160.

Grażyna Sender, Maria Dymnicka, Agnieszka Korwin-Kossakowska,
Barbara Gralak, Ewa Arkuszewska, Andrzej Łozicki

Association of lactoferrin gene polymorphism with milk yield of Polish Holstein-Friesian cows

Summary

The objective of this study was to investigate the association of lactoferrin genotypes with milk yield in cattle. Test – day milk samples were collected monthly. The polymorphism of lactoferrin gene was identified in blood samples collected from 516 cows in three herds. Polymor-

phism of lactoferrin gene was identified by PCR-RFLP method. Frequency of alleles A and B was 0.81 and 0.19 respectively. Genotype AA was associated significantly ($P \leq 0.01$) with increased of milk yield. The presence of BB genotype was associated with decreased of milk yield. Genotype BB of lactoferrin gene, associated with resistance to mastitis was at the same time unfavorably associated with lower milk yield.